

Molekulare Bildgebung mittels O-(2-¹⁸F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin Positronen-Emissions-Tomographie im Glioblastom-Mausmodell



Dissertation an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Adrien Holzgreve

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Peter Bartenstein

**Molekulare Bildgebung mittels O-(2-¹⁸F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin
Positronen-Emissions-Tomographie im Glioblastom-Mausmodell**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Adrien Holzgreve
aus Berlin (geboren in Bissendorf)

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Peter Bartenstein

1. Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Karim-Maximilian Niyazi

2. Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Niklas Thon

Mitbetreuung durch die

promovierten Mitarbeiter: Priv.-Doz. Dr. med. Nathalie L. Albert, geb. Jansen

Dr. med. Matthias Brendel

Dr. med. Marcus Unterrainer

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.2018

Meinen Eltern, meinem Bruder und meiner Großmutter

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Einführung	1
1.2	Zielsetzung	2
2	Glioblastom	4
2.1	Mensch	4
2.1.1	Epidemiologie	4
2.1.2	Symptomatik	4
2.1.3	Pathologie	5
2.1.4	Diagnostik	5
2.1.5	Therapie	7
2.1.6	Prognose	8
2.2	Maus	8
2.2.1	Syngene Modelle	9
2.2.2	Xenografts	9
2.2.3	Gentechnisch modifizierte Organismen (GMO)	10
3	PET-Bildgebung des Glioblastoms	11
3.1	Positronen-Emissions-Tomographie (PET)	11
3.1.1	Historisches	11
3.1.2	Funktionsprinzip	11
3.1.3	Anwendungsgebiete und Entwicklung	12
3.2	Nuklearmedizinische Tracer in der Neuroonkologie	13
3.2.1	Allgemeine Überlegungen	13
3.2.2	Übersicht Tracer	15
3.2.3	O-(2- ¹⁸ F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin (¹⁸ F-FET)	17
3.3	Rolle der ¹⁸ F-FET PET in der klinischen Neuroonkologie	18

3.3.1	Erst- und Differentialdiagnostik.....	18
3.3.2	Verlaufsdiagnostik und Prognose.....	19
3.3.3	Allgemeine Limitationen	20
4	Tierexperimenteller Teil.....	21
4.1	Material und Methoden	23
4.1.1	Tierversuchsgenehmigung und Tierhaltung	23
4.1.2	Tiermodell.....	25
4.1.3	PET	28
4.1.4	Intrakardiale Perfusion und Tötung	31
4.1.5	Autoradiographie	33
4.1.6	Histologie.....	34
4.1.7	Statistische Auswertung	35
4.2	Ergebnisse: Nicht-volumetrische Darstellung des Tumorwachstums	36
4.2.1	Qualitative, visuelle Beurteilung	36
4.2.2	Quantitative PET-Beurteilung.....	42
4.3	Ergebnisse: Translation PET-volumetrischer Verfahren von Mensch zu Maus.....	47
4.3.1	Prinzip der PET-Volumetrie aus der klinischen Routine	47
4.3.2	Anwendung der klinischen Methode im Mausmodell.....	47
4.4	Ergebnisse: Individualisierte PET-Volumetrie im Mausmodell.....	50
4.4.1	Entwicklung einer individualisierten Methode der BTV-Definition.....	50
4.4.2	Anwendung der neuentwickelten Methode.....	52
4.4.3	Validierung der neuentwickelten Methode.....	55
4.5	Diskussion der Tierexperimente	57
4.5.1	Grundvoraussetzungen für ^{18}F -FET PET im Glioblastom-Mausmodell ..	57
4.5.2	Qualitative, visuelle Beurteilung des Tumorwachstums	58
4.5.3	Quantitative PET-Beurteilung.....	58
4.5.4	Volumetrische Verfahren	61

5	Diskussion.....	63
5.1	^{18}F -FET PET-Bildgebung des Glioblastoms im Menschen	63
5.2	^{18}F -FET PET-Bildgebung des Glioblastoms in der Maus.....	64
5.3	Ausblick nuklearmedizinischer Verfahren beim Glioblastom	67
6	Zusammenfassung	70
7	Anhang.....	71
7.1	Abkürzungsverzeichnis.....	71
7.2	Literaturverzeichnis.....	74
7.3	Abbildungsverzeichnis	91
8	Danksagung.....	93
9	Eidesstattliche Versicherung.....	94

1 Einleitung

1.1 Einführung

Das Glioblastom ist ein bösartiger hirneigener Tumor (Gliom) und mit einer allgemein sehr schlechten Prognose vergesellschaftet. Die Diagnostik besteht neben der Erhebung des klinisch-neurologischen Status im Wesentlichen aus bildgebenden und neuropathologischen Verfahren. Trotz multimodaler Therapieschemata mit verschiedenen Angriffspunkten der einzelnen Therapien sind Glioblastome bisher nicht heilbar. Nach Standardtherapie beträgt die mittlere Überlebenszeit von Patientinnen und Patienten mit Glioblastom weiterhin nur etwa 17 Monate. [1] Das Outcome der Betroffenen muss somit dringend verbessert werden. Neben den Standardtherapien bestehend aus Resektion, Bestrahlung und Chemotherapie wird bei Glioblastom-Patienten und -Patientinnen eine Vielzahl innovativer therapeutischer Ansätze verfolgt. Um das Therapie-Management zu optimieren werden jedoch nicht nur neue Therapie-Ideen benötigt – Weiterentwicklungen der Diagnostik sind für eine erfolgreiche Behandlung von Hirntumoren von ähnlich hohem Stellenwert. Tatsächlich haben die angesprochenen Therapieansätze trotz ausgeprägter Komplexität und unterschiedlicher Angriffspunkte – man denke etwa an die Immuntherapie [2, 3], den Einsatz onkolytischer Viren [4, 5] oder auch die Kombinationen derartiger innovativer Verfahren [6] – bisher nicht zu einem allgemeinen „Durchbruch“ in der Glioblastom-Therapie im Sinne einer deutlichen Verbesserung des Outcomes führen können. Es ist anzunehmen, dass die mäßigen Erfolge – zumindest teilweise – durch vorab nicht ausreichend genau bestimmte Tumorentitäten bzw. nicht ausreichend genau selektionierte Therapiekohorten bedingt sind. Wer wird von welcher Therapie am ehesten profitieren? Darüber hinaus werden durchaus vorhandene moderate Therapieerfolge bisweilen unzureichend (bildgebend) erfasst. Zu welchen Zeitpunkten kann das Ansprechen oder Versagen einer Therapie zuverlässig evaluiert und die Therapie ggf. noch umgestellt werden?

Hier kommt einer akkurateren Diagnostik mittels molekulargenetischer Methoden einerseits und bildgebender Modalitäten andererseits eine Schlüsselrolle zu. Die nuklearmedizinische Bildgebung mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) stellt hierbei eine der modernen Möglichkeiten für molekulares Imaging von

Krankheitsprozessen dar und beansprucht eine zunehmende wichtige Stellung in der klinischen und experimentellen Diagnostik neuroonkologischer Pathologien. Insbesondere die Aminosäure-PET eignet sich zur Darstellung und Beurteilung hirneigener Tumoren wie des Glioblastoms. Die grundsätzliche Wertigkeit der PET für die Neuroonkologie ist in der Literatur mittlerweile gut belegt, insbesondere der Einsatz des Aminosäure-Analogons ^{18}F -Fluoroethyl-L-Tyrosin (^{18}F -FET) als Tracer hat zu Verbesserungen der Glioblastom-Diagnostik sowohl in der Primärsituation (beispielsweise bei der Differentialdiagnostik, beim Tumorgrading oder bei der Biopsie-Planung) als auch in der Rezidivsituation (beispielsweise beim Therapie-Monitoring oder der Abgrenzung zu posttherapeutischen Veränderungen) geführt. [7] Das Potenzial der ^{18}F -FET PET in Hinblick auf ein individualisiertes Therapie-Management bei Glioblastomen ist jedoch noch unzureichend ausgeschöpft und das weite Feld der PET-Forschung an Hirntumoren bleibt generell spannend [8]: Zum einen sind große multizentrische Studien unabdingbar und auch bereits in Planung, um die klinische Wertigkeit der PET-Bildgebung bei Hirntumoren mit noch höherer Evidenz zu untermauern, zum anderen sind weiterhin technische und methodische Fortschritte erforderlich – sowohl im Bereich der einfachen PET-Bilddatenauswertung als auch etwa im vergleichsweise jungen Feld der nuklearmedizinischen Radiomics und -genomics. Ein weiterer bedeutender Ausblick liegt in der Entwicklung innovativer Radionuklidtherapien für das Glioblastom.

1.2 Zielsetzung

Konkret sollen in der vorliegenden Dissertation zunächst das Krankheitsbild *Glioblastom* und anschließend umfassend der aktuelle Stand der nuklearmedizinischen Bildgebung des Glioblastoms beleuchtet werden. Hierbei wird gezielt auf die Vorteile der Aminosäure-PET für die klinische Neuroonkologie eingegangen. In Anbetracht des eklatanten Mangels in der Fachliteratur an methodisch-grundlegenden Arbeiten zur präklinischen ^{18}F -FET PET sollen anschließend im tierexperimentellen Teil der Dissertation grundlegende Methoden für die Anwendung der ^{18}F -FET PET im Glioblastom-Mausmodell ergründet werden. Gleichmaßen sollen Wege für das volumetrische *in vivo* Monitoring des Wachstums von Hirntumoren in der Maus aufgezeigt werden. Hierfür wird einerseits die grundsätzliche Machbarkeit von Volume-of-Interest (VOI)-basierten

Bildauswertungen der ^{18}F -FET PET im GL261-Mausmodell geprüft. Um der geringen räumlichen Größe muriner Hirntumoren gerecht zu werden und die PET-Auflösung weiter zu verbessern, soll zusätzlich eine Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC) erarbeitet werden. Andererseits wird besonderes Augenmerk auf die Eignung der ^{18}F -FET PET gelegt, das biologische Tumolvolumen (BTV) zu bestimmen, was zuvor in neuroonkologischen Mausmodellen noch nicht untersucht worden ist. Zu diesem Zwecke wird zunächst in einem translationalen Ansatz die klinische Methode der BTV-Bestimmung (bestehend aus einer semiautomatischen Grenzwert-basierten VOI-Definition) in das Mausmodell übertragen. Anschließend werden die auf diese Weise geschätzten PET-Volumina mit den histologischen Tumolvolumina abgeglichen. Der direkte Vergleich beider Modalitäten ist im Menschen in dieser Form nicht realisierbar und unterstreicht den Vorteil des präklinischen Ansatzes. Als ein Kernstück der Arbeit wird eine neue und histologisch-validierte Methode zur angepassten BTV-Bestimmung des murinen Glioblastoms unter Verwendung individueller Grenzwerte in der ^{18}F -FET PET vorgestellt. Schlussendlich können neben der Etablierung und Weiterentwicklung der PET-Methodik über die Betrachtung der ^{18}F -FET-Aufnahme auch tumorbiologische bzw. metabolische Informationen über das in dieser Arbeit verwendete Hirntumormodell gewonnen werden.

Für die Literaturrecherche wurden die gängigen Datenbanken und Suchmaschinen verwendet, insbesondere die Datenbank „PubMed“ der US-amerikanischen National Library of Medicine und der National Institutes of Health (NIH) sowie die Suchmaschine „Google Scholar“ (Google Inc., USA). Des Weiteren wurden einschlägige Standardwerke der Neuroonkologie, Neurochirurgie und Nuklearmedizin herangezogen. Darüber hinaus sind in die Vorbereitungen der vorliegenden Dissertation teilweise auch Informationen eingeflossen, welche nicht in wissenschaftlichen Fachjournals veröffentlicht sind bzw. zum Zeitpunkt der Planung und Durchführung des tierexperimentellen Teils noch nicht in wissenschaftlichen Fachzeitschriften publiziert waren. Dies ist auf die aktive Teilnahme von Mitgliedern der Arbeitsgruppe auf den relevanten nationalen und internationalen Kongressen sowie den engen Informationsaustausch mit den wichtigen Arbeitsgruppen zum Thema der Dissertation zurückzuführen.

2 Glioblastom

2.1 Mensch

2.1.1 Epidemiologie

Das Glioblastom ist der häufigste bösartige hirneigene Tumor und stellt mit knapp der Hälfte der Fälle die häufigste aller bösartigen Tumorerkrankung des zentralen Nervensystems dar. Gut die Hälfte aller neuroepithelialen Tumoren sind Glioblastome und knapp 15 % sämtlicher Tumoren des zentralen Nervensystems sind Glioblastome. Die jährliche Inzidenz liegt bei gut 3 Neuerkrankungen pro 100 000 Einwohnerinnen und Einwohnern mit geringfügig vermehrtem Auftreten bei männlichem Geschlecht. Das mediane Alter bei Erstdiagnose liegt bei 64 Jahren. [9]

2.1.2 Symptomatik

Zu den Symptomen älterer Patientinnen und Patienten mit Glioblastom gehören zum Zeitpunkt der Erstvorstellung in absteigender Häufigkeit kognitive Veränderungen (in 42,1 % der Fälle), Beeinträchtigungen der Sprache (30,7 %), Hemiparesen (24,1 %), Kopfschmerzen (22,6 %), epileptische Anfälle (20,1 %), Gangunsicherheiten (16,0 %), visuelle Beeinträchtigungen (13,5 %), Stürze (6,4 %), kraniale Neuropathien (4,3 %), sensorische Defizite (4,8 %) und erhöhter intrakranieller Druck (1,5 %). [10] Der klinische Status kann sich im Laufe der Erkrankung bisweilen rasch verändern. [11] Für die klinische Praxis ist es neben dem somatischen Status wichtig zu berücksichtigen, dass die „Krebserkrankung Glioblastom“ auch mit relevanten psychischen Belastungen und Veränderungen von Beziehungen und Rollen im persönlichen Umfeld des Patienten oder der Patientin einhergehen kann. [12] Zur Beurteilung der funktionellen Einschränkung im Alltag werden in der Regel der *Karnofsky performance status scale* (KPS) oder der Index der *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) herangezogen. [13]

2.1.3 Pathologie

In knapp 90 % der Fälle handelt es sich beim Glioblastom zum Zeitpunkt der Erstdiagnose um eine solitäre Läsion. Letztere tritt zu etwa gleichen Anteilen (ca. 45 % der Fälle) in der linken oder rechten Hemisphäre auf, in etwa 8 % der Fälle hat das erstdiagnostizierte Glioblastom eine bilaterale Ausdehnung. Extrakranielle Manifestationen sind im Vergleich dazu selten. [10]

Histologisch betrachtet handelt es sich bei Glioblastomen um zelldichte, infiltrative Tumoren astrozytären Ursprungs mit in den meisten Fällen nukleären Atypien, (ggf. pseudopallisadenartigen) Nekrosen und mikrovaskulären Proliferaten, z. B. glomerulären Gefäßknäueln. [14]

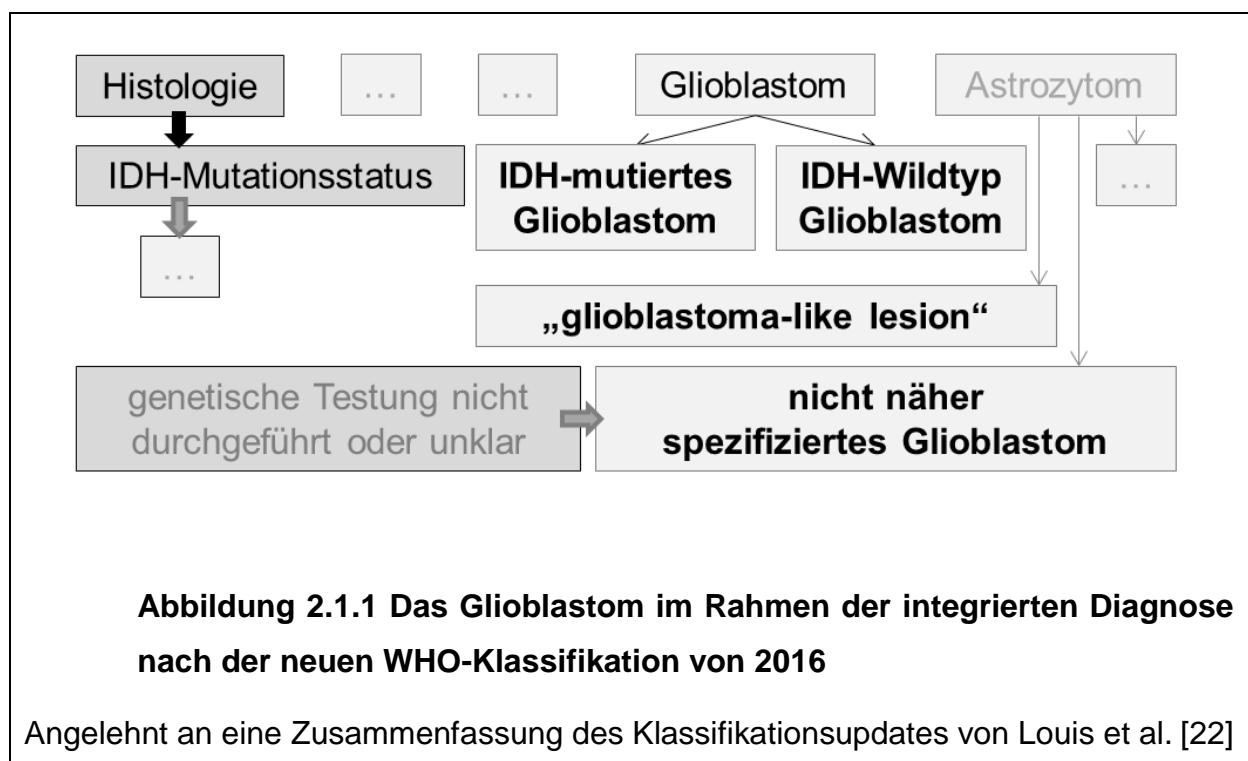
Genetische Analysen in großen Patientenkohorten basierend auf den TCGA-Daten (*The Cancer Genome Atlas*) haben zu einer Klassifikation des Glioblastoms in folgende Subtypen geführt: proneural, neural, klassisch, und mesenchymal. [15] Aufgrund des hohen Stellenwertes für die Diagnosestellung und die Prognose ist molekulargenetisch jedoch vor allem der Mutationsstatus des Gens für die Isozitatdehydrogenase (IDH; Isoformen: IDH 1 / IDH 2) ein klinisch relevanter Parameter bei Gliomen. [16] Bei Glioblastomen liegt in der Regel ein IDH-Wildtyp vor und dieser ist mit einer schlechteren Prognose assoziiert. Gliome, welche zwar die histologischen Kriterien eines Glioblastoms nicht vollständig erfüllen, bei denen jedoch ein IDH-Wildtyp vorliegt, werden in Anlehnung an das Glioblastom und aufgrund ihres schlechten klinischen Verlaufs auch *glioblastoma-like lesion* genannt. [17] Auch epigenetische Veränderungen wie die DNA-Methylierung spielen eine zunehmend wichtige Rolle in der Neuropathologie von Hirntumoren wie dem Glioblastom. [18, 19]

2.1.4 Diagnostik

Bei klinischem Verdacht auf einen Hirntumor erfolgt vor Gewinnung der diagnosesichernden feingeweblichen Untersuchung standardmäßig zunächst eine radiologische Bildgebung, vorzugsweise eine Kontrastmittel-gestützte Magnetresonanztomographie (MRT). Insbesondere für die Verlaufsdagnostik gelten hierbei klar definierte Empfehlungen, welche von der Arbeitsgruppe für *Response Assessment in Neuro-Oncology* (RANO) ausgearbeitet werden und kontinuierlichen

Überprüfungen und Optimierungen unterliegen. [20] Neben der konventionellen strukturellen Bildgebung spielen vor allem die nuklearmedizinische Positronen-Emissions-Tomographie (PET) sowie auch fortgeschrittene MRT-Techniken eine zunehmend wichtige Rolle in der neuroonkologischen Diagnostik. [21] Für die PET-Bildgebung des Glioblastoms sind allen voran Aminosäure-Tracer etabliert (siehe Punkt 3.2.2).

Seit Aktualisierung der Klassifikation der Tumoren des Zentralnervensystems seitens der Weltgesundheitsorganisation (WHO) im Jahr 2016 fließen neben den histologischen Kriterien und dem WHO-Grad erstmals auch molekulare Befunde in eine nunmehr *integrierte Diagnose* ein. Das Einbeziehen der molekularen Parameter hat zu tiefgreifenden kategorialen Veränderungen geführt, welche neben beispielsweise den Medulloblastomen insbesondere auch die Gliome des Erwachsenenalters betreffen. [23] Konkret werden bei den Glioblastomen folgende Entitäten unter Zuhilfenahme molekulargenetischer Parameter unterschieden: IDH-Wildtyp Glioblastome (einschließlich Riesenzell-Glioblastom, Gliosarkom und epitheloidem Glioblastom), IDH-mutiertes Glioblastom, und nicht näher spezifizierte Glioblastome (z. B. bei Fehlen relevanter molekulargenetischer Informationen) [22, 24], siehe auch Abbildung 2.1.1.



Die neurologische Funktion von Patientinnen und Patienten mit Glioblastom kann im Verlauf der Erkrankung sowohl über die erlebten Funktionseinschränkungen im Alltag (KPS, ECOG) als auch über den ärztlich festgestellten klinisch-neurologischen Status [25] standardisiert erfasst werden. Beide Methoden stellen neben der standardisierten bildgebenden Kontrolle eine wichtige Säule der Verlaufsdagnostik dar und sind wichtig für die Durchführung multizentrischer Studien. Auch nicht-professionelle Berichterstattungen von den Patientinnen und Patienten selbst spielen in der Diagnostik eine Rolle und es wird auch hier ein zunehmend standardisierter Gebrauch angestrebt. [26]

2.1.5 Therapie

Sowohl in der Primär- als auch in der Rezidivsituation beruht die Therapie des Glioblastoms in der Regel auf mehreren Säulen. Grundsätzlich steht am Anfang die neurochirurgische Operation (nach Möglichkeit Resektion mit maximaler Tumolvolumenreduktion [27], ansonsten Biopsie). Postoperativ sollte in Abhängigkeit der molekularen Marker nach Möglichkeit eine adjuvante Behandlung aus Strahlentherapie oder Chemotherapie bzw. eine Kombination daraus angeschlossen werden. [28] Das gängigste Chemotherapeutikum ist das alkylierende Zytostatikum Temozolomid und ist insbesondere bei geeignetem molekularen Profil des Tumors wirksam (*methylierter MGMT-Promotor*). [29, 30] Alternativ können andere Mittel verabreicht werden, allen voran Nitrosoharnstoff oder die Kombination aus Procarbazin, Lomustin und Vincristin (PCV). [28] Standard ist das sogenannte „Stupp-Schema“ mit 6 Zyklen konkomitierendem Temozolomid (IA-Evidenz bei IDH-Wildtyp Glioblastomen, Alter < 70 Jahren und KPS \geq 70). [28, 31] Bei der Strahlentherapie wird in der Regel eine Gesamtdosis von 60 Gray appliziert, verabreicht in Einzeldosen. Insbesondere bei älteren Patientinnen und Patienten oder solchen mit prognostisch ungünstigen Faktoren kann ein hypofraktioniertes Schema gewählt werden oder eine alleinige Chemotherapie. [32-36] Trotz vorübergehender Symptomkontrolle bleibt die prognostische Wertigkeit der Gabe von Bevacizumab (kombiniert mit Irinotecan) ungewiss; es konnte bisher kein überzeugender Einfluss auf das Gesamtüberleben gezeigt werden. [1, 37-40] Für ältere Patientinnen und Patienten (> 65 Jahre) ist die Datenlage für evidenzbasierte Therapieentscheidungen insgesamt weiterhin unbefriedigend. [41] Insbesondere

auch fortgeschrittene palliative Situationen können alternative Therapiekonzepte entgegen der oben zusammengefassten lebensverlängernden Maßnahmen der Standardtherapien bedingen. [42]

2.1.6 Prognose

Die Prognose des Glioblastoms ist mit Ausnahme sehr weniger Langzeitüberlebender grundsätzlich schlecht. [43] Nach der WHO wird das Glioblastom in den prognostisch ungünstigsten WHO-Grad IV eingestuft. [22] Über die letzten Jahrzehnte hat sich die Prognose der Gliome zwar kontinuierlich moderat verbessert [44]; nach multimodaler Standardtherapie beträgt das mediane Gesamtüberleben von Patientinnen und Patienten mit Glioblastom heutzutage jedoch weiterhin nur etwa 17 Monate. [1] Bei Glioblastomen mit methyliertem MGMT-Promotor beträgt das mediane Gesamtüberleben etwa 48,1 Monate. [44, 45] Prognosebestimmend sind neben dem IDH-Mutationsstatus unter anderem das Patientenalter sowie das Ausmaß der neurochirurgischen Resektion. [46] Auch in nicht-resektablen Glioblastomen spielt die Kenntnis der molekularen Marker eine wichtige Rolle für die Abschätzung der Prognose. [47] Die prognostische und prädiktive Aussagekraft einzelner Marker kann hierbei in Abhängigkeit des Glioblastom-Subtyps variieren. [48]

2.2 Maus

Für die Weiterentwicklung der Diagnostik und die Erforschung innovativer Therapieansätze spielen präklinische Mausmodelle eine bedeutende Rolle. [49] Neben Mäusen werden in der präklinischen Forschung auch Ratten und seltener andere Säugetiere für neuroonkologische Modelle verwendet. Die Nutzung von Mäusen für die tierexperimentelle Erforschung von Glioblastomen ist jedoch am weitesten verbreitet. Grundsätzlich lassen sich die präklinischen Glioblastom-Mausmodelle in drei übergeordnete Gruppen einteilen: Syngene Glioblastom-Modelle, Xenografts und gentechnisch-veränderte Glioblastom-Modelle (vereinfacht dargestellt in Abbildung 2.2.1). Zu nennen sind hier auch auf Transduktion mittels viraler Vektoren basierende Modelle, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen wird. [50, 51] Die Glioblastom-Subtypen basierend auf den humanen

TCGA-Daten werden auch zur Beschreibung von Glioblastomen im präklinischen Setting herangezogen. [52, 53]

2.2.1 Syngene Modelle

Syngene Modelle mit Zelllinien wie GL261, GL26, CT-2A, SMA-560 oder 4C8 sind spontan entstehende oder chemisch induzierte murine Gliome und haben den Vorteil, in immunkompetenten Mäusen (C57BL/6, VM/Dk, B6D2F1) wachsen zu können. Sie erlauben Untersuchungen der Tumorummunologie und immuntherapeutischer Ansätze. [54] GL261 ist die am häufigsten genutzte syngene Zelllinie für präklinische Glioblastom-Modelle.

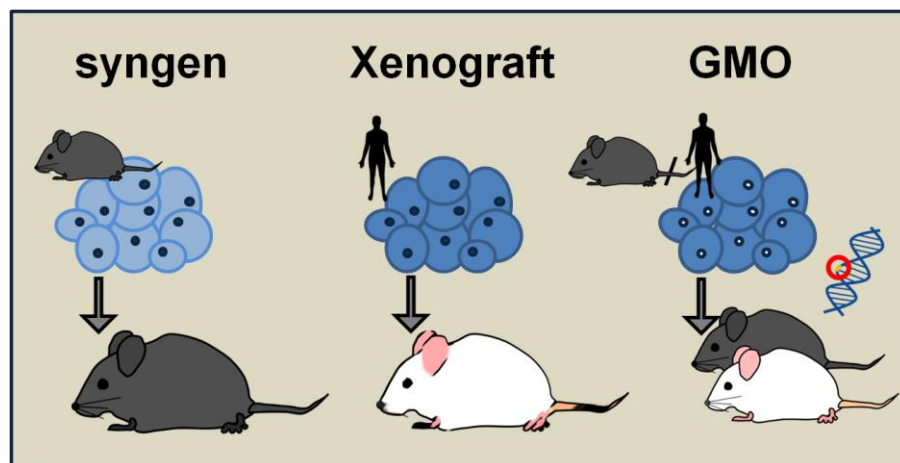


Abbildung 2.2.1 Vereinfachte Übersicht gängiger Maustumormodelle

Murine Tumorzellen können in immunkompetente Fellmäuse (**braun**) eingesetzt werden. Humane Tumorzellen werden in immunsupprimierte bzw. immundefekte Nacktmäuse (**weiß**) inokuliert. GMO = gentechnisch modifizierter Organismus.

2.2.2 Xenografts

Bei Xenografts handelt es sich in der Regel um immunsupprimierte Mäuse (sogenannte Nacktmäuse, z. B. NOD/SCID), denen in der Regel menschliche Tumorzellen eingesetzt werden. Die Xenografts kann man wiederum in zwei Kategorien weiter unterteilen: Zum einen gibt es Modelle basierend auf kommerziell-erhältlichen menschlichen Glioblastom-Zelllinien (etwa U87, U251, T98G oder A172),

zum anderen direkt aus (frischem) Patientengewebe abgeleitete Modelle, die sogenannten *patient-derived xenografts* (PDX). Zelllinien-Modelle haben den Vorteil robuster Wachstumseigenschaften sowohl *in vivo* als auch immortalisiert *in vitro* [55], spiegeln die klinischen Eigenschaften und den Genotyp der Ursprungstumore teilweise jedoch nur begrenzt wider. [56] Des Weiteren zeigen sie nicht zwingend denselben Phänotyp wie die Ursprungstumoren bzw. nicht die typischen histologischen Merkmale von Glioblastomen. [57, 58] PDX werden zunehmend für die translationale Glioblastom-Forschung herangezogen und haben den Vorteil, die genetischen und histologischen Eigenschaften des Ursprungstumors in hohem Maße zu erhalten. Teilweise kann auch das ursprüngliche Tumor-Microenvironment abgebildet werden. Über die Art und Notwendigkeit einer vorbereitenden Zellkultivierung des frisch-entnommenen Tumorgewebes vor Inokulation in die Maus sowie den bestmöglichen Inokulationsort (orthotop versus subkutan) herrscht Uneinigkeit; grundsätzlich sind alle genannten Optionen technisch möglich. Zu bedenken ist auch, dass je nach Kultivierungsmethode nicht sämtliche humanen Gliome erfolgreich in Mäusen anwachsen. [49]

2.2.3 Gentechnisch modifizierte Organismen (GMO)

Gentechnisch modifizierte Organismen (GMO) sind aufwendiger herzustellen. Sie eignen sich in besonderem Maße für die Untersuchung der molekularen Ereignisse, welche bei der Tumorentstehung und -progression eine Rolle spielen, sowie für die Betrachtung spezifischer Mutationen oder Signalwege und des Tumor-Microenvironments. [59] Vorsicht ist jedoch geboten, da die uniformen genetischen Veränderungen im GMO nicht zwingend der intratumoralen genetischen und phänotypischen Heterogenität von Glioblastomen gerecht werden und damit verbundene Effekte eventuell nicht ausreichend im GMO abgebildet werden. [49]

3 PET-Bildgebung des Glioblastoms

3.1 Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist ein nuklearmedizinisches Schnittbildgebungsverfahren und primär funktionsorientiert. Bei der PET werden schwach radioaktiv markierte körpereigene oder körperfremde Substanzen verwendet, um physiologische oder pathologische Prozesse im Körper *in vivo* mit einem Scanner darzustellen. PET-Bildgebung ist sowohl im Menschen als auch in Tieren möglich.

3.1.1 Historisches

Die PET ist eine der spezifischsten und sensitivsten Verfahren für die funktionelle Bildgebung von molekularen Vorgängen im menschlichen Körper und hat über die letzten 60 Jahre beträchtliche Entwicklungen und Fortschritte erfahren: Die räumliche Auflösung hat sich um den Faktor 10 verbessert und die Sensitivität der heutigen Scanner ist um den Faktor 40 höher im Vergleich zu frühen Geräten aus den Siebzigerjahren. [60, 61] Die hohe Spezifität für die gezielte Darstellung einzelner funktioneller Geschehen auf molekularer Ebene ist unter anderem der großen Breite an spezifischen nuklearmedizinischen Tracern geschuldet, welche an die gewünschten Zielstrukturen chemisch binden oder teil eines Stoffwechselprozesses sind (siehe auch das Funktionsprinzip in Punkt 3.1.2). Grundlegende Arbeiten zur Tracermethode stammen von George de Hevesy (1885-1966; Nobelpreis 1943 „für seine Arbeiten über die Anwendung der Isotope als Indikatoren bei der Erforschung chemischer Prozesse“ [62]).

3.1.2 Funktionsprinzip

Der PET-Bildgebung liegen schwach radioaktiv-strahlende Substanzen (sogenannte Tracer) zugrunde. Sie werden in der Regel venös appliziert und verteilen sich anschließend im Körper. Ihr radioaktiver Zerfall im Körper wird nun von einem Scanner detektiert und auf diese Weise können gezielt molekulare Vorgänge im Körper zur Darstellung gebracht werden. Bei den Tracern kann es sich um einfache

Radionuklide handeln, beispielsweise das radioaktive Isotop ^{18}F des Fluors, oder um zusammengesetzte Radiopharmaka, bei denen das Radionuklid an ein Trägermolekül gekoppelt ist. Typische Radionuklide neben ^{18}F sind ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{82}Rb oder ^{68}Ga . [63] Je nach Fragestellung bieten sich als Träger oftmals natürlicherweise im Körper vorkommende Substanzen an (bzw. minimal abweichende Analoga), welche am physiologischen Körperstoffwechsel teilnehmen, ohne diesen jedoch wesentlich zu beeinflussen. Ein klassisches Beispiel hierfür ist die radioaktiv-markierte Glukose (das zusammengesetzte Radiopharmakon heißt ^{18}F -Fluordesoxyglucose, ^{18}F -FDG): Der Tracer wird von zuckerverbrauchenden Zellen über spezielle Transporter aufgenommen und akkumuliert anschließend nach Phosphorylierung in den Zellen – genau wie die nicht radioaktiv-markierte körpereigene bzw. über die Nahrung aufgenommene Glukose. Die Tracerverteilung bildet somit den natürlichen, physiologischen Zuckerstoffwechsel ab. In vielen Tumoren ist der Zuckerverbrauch massiv gesteigert, sodass nun ^{18}F -FDG besonders stark in diesen Tumoren anreicht und sie somit in der PET funktionell sichtbar macht. [64, 65]

Physikalisch liegt der PET-Bildgebung die durch den Einsatz von Positronenstrahlern entstehende Gammastrahlung zugrunde. Letztere entsteht durch eine Paarvernichtung (sogenannte *Annihilation*) von Elektron und dem vom Radionuklid ausgestrahlten namensgebenden Positron. Bei der Annihilation entstehen zwei hochenergetische Photonen, welche mit einer Energie von 511 keV im Winkel von 180° zu einander ausgestrahlt werden. Ein ringförmiges System an Photonen-Detektoren in einem PET-Scanner kann nun koinzidente Ereignisse an direkt gegenüberliegenden Detektionsfeldern registrieren. Schlussendlich erlaubt die zeitliche und räumliche Verteilung der auf diese Weise gemessenen radioaktiven Zerfallsereignisse Rückschlüsse auf die Tracerverteilung im Körper. Um physikalische Störfaktoren wie gestreute Koinzidenzen oder Zufallskoinzidenzen zu berücksichtigen, werden verschiedene technische Korrekturen der Messdaten durchgeführt. [66, 67]

3.1.3 Anwendungsgebiete und Entwicklung

PET-Untersuchungen sind inzwischen ein wichtiger Bestandteil der klinischen Diagnostik sowohl in der Onkologie (z. B. im Rahmen des onkologischen Stagings),

der Neurologie (z. B. bei der Frühdiagnostik von Demenzerkrankungen) als auch der Neuroonkologie (siehe hierzu Punkt 3.2 und Punkt 3.3.). Weitere klinische Einsatzgebiete finden sich etwa im Bereich der Immunologie, der Kardiologie sowie in weiteren medizinischen Fachgebieten. [68]

Seit 2001 werden in der klinischen Praxis für eine Vielzahl an Indikationen auch mit struktureller Computertomographie (CT)-Bildgebung kombinierte PET-Geräte genutzt (PET/CT) und seit 2010 finden hybride PET/MRT-Geräte zunehmend Anwendung – präliminär auch in der Neuroonkologie. [60, 69]

Abgesehen von klinisch relevanten Indikationen stellt die PET-Bildgebung eine wichtige Modalität auch für die (medizinische) Grundlagenforschung dar und kann zum besseren Verständnis grundlegender Funktionsprinzipien des menschlichen Körpers oder anderer Tiere beitragen. [70]

Neben der Anwendung im Menschen spielt die PET eine bedeutende Rolle in der Kleintier-Bildgebung, insbesondere bei Nagern. Sie wird außerdem bei weiteren Säugetieren wie Schweinen oder Hunden eingesetzt. [71, 72]

3.2 Nuklearmedizinische Tracer in der Neuroonkologie

Inzwischen steht eine Vielzahl an PET-Tracern für neuroonkologische Fragestellungen zur Verfügung. Im Folgenden werden die für die klinische Neuroonkologie wesentlichen Tracer vorgestellt und ihre Vor- und Nachteile für die PET-Bildgebung des Glioblastoms aufgezeigt.

3.2.1 Allgemeine Überlegungen

Ein Großteil der für die PET-Bildgebung relevanten Krankheitsprozesse geht mit einem gestörten und in der Regel erhöhten Glukoseumsatz einher. Insbesondere Tumoren zeigen einen vermehrten Zuckerverbrauch und das ^{18}F -FDG eignet sich deshalb hervorragend zum Aufspüren und zur Abgrenzung von Tumorherden in der systemischen Onkologie. [73, 74] Da das gesunde Gehirn jedoch selbst einen sehr hohen Glukoseverbrauch hat (etwa ein Viertel des gesamten Ruheenergieverbrauchs im menschlichen Körper entfällt auf das Gehirn [75]), reichert sich hier auch physiologisch besonders viel ^{18}F -FDG an. Liegt nun ein Tumor

im Gehirn und es würde ^{18}F -FDG für einen PET-Scan verabreicht, so könnte im PET-Bild trotz im Vergleich zum gesunden Hirn noch erhöhter Glukoseaufnahme ein Hirntumor nicht mit hinreichender Zuverlässigkeit abgegrenzt werden. Das nuklearmedizinische „Zugpferd“ ^{18}F -FDG ist für die neuroonkologische zerebrale Bildgebung somit unzureichend geeignet und kann vernachlässigt werden. Vielmehr sind Tracer vonnöten, welche sehr spezifisch an das Tumorgewebe binden, ohne jedoch im gesunden Gehirn zu akkumulieren. Auf diese Weise kann eine scharfe Abgrenzung des Tumors vom Hirnparenchym gelingen und ein hoher Tumor-zu-Hintergrund Kontrast im PET-Bild entstehen. Des Weiteren wird Spezifität auch in Bezug auf andere Pathologien angestrebt: So sollte ein Tracer im Idealfall ausschließlich die Hirntumoren von Interesse detektieren und nicht etwa in gleichem Maße entzündliche Prozesse oder auf andere Weise reaktiv verändertes Gewebe. Nicht zuletzt sollte ein Tracer eine hohe Sensitivität aufweisen: Wenn unter Verwendung eines bestimmten Tracers ein Großteil der Tumoren *nicht* positiv in der PET erscheinen würde, so wäre dieser Tracer unter Umständen weniger oder nicht für den klinischen Alltag geeignet bzw. sein Einsatz womöglich auf nur wenige spezielle Fragestellungen beschränkt. Weiterhin ist zu bedenken, dass kurzlebige Tracer – beispielsweise ^{11}C -gekoppelte Liganden mit einhergehender geringer Halbwertszeit von gut 20 Minuten – eines enormen logistischen Aufwands bedürfen und in der Regel ein Zyklotron vor Ort Voraussetzung für die Verwendung derartiger Tracer ist. Es sollten somit langlebigere Isotope bevorzugt werden, beispielsweise das Fluor-Isotop ^{18}F mit einer Halbwertszeit von knapp 110 Minuten. Diese Erwägung ist nicht nur aus biomedizinischen und wissenschaftlichen Gründen relevant (für die Realisierung multizentrischer Studien), sondern hat auch sozioökonomische bzw. gesundheitspolitische Bedeutung: Schließlich soll der Nutzen der PET-Bildgebung den Patientinnen und Patienten aller neuroonkologischer Zentren mit nuklearmedizinischer Abteilung zugutekommen können und nicht nur jenem Kreis medizinischer Hochleistungszentren mit angeschlossenem Zyklotron vorbehalten bleiben. [74]

3.2.2 Übersicht Tracer

Trotz der eingangs aufgeführten Limitationen des ^{18}F -FDG für die PET-Bildgebung von Gliomen allein aus theoretischen Erwägungen heraus sind – überwiegend während der Anfänge der PET-Bildgebung in der Neuroonkologie – eine nicht unerhebliche Anzahl an Studien zur Eignung dieses Tracers für die Diagnostik von Hirntumoren durchgeführt worden. Aus diesen geht hervor, dass die ^{18}F -FDG PET zwar zu einer Unterscheidung von ZNS-Lymphomen und Glioblastomen beitragen kann [76], jedoch – wie bereits angeführt – eher deutliche Unzulänglichkeiten in der Differentialdiagnostik von Glioblastomen beispielsweise zu Metastasen sowie Neurosarkoidose und nicht-neoplastischen Läsionen zeigt. [77] Auch ein Grading innerhalb der Gesamtgruppe der Gliome sowie eine Therapieplanung sind kaum möglich aufgrund des schlechten Tumor-zu-Hintergrund Kontrastes. [78] Auch ist die ohnehin schon limitierte Eignung des ^{18}F -FDG für Hirntumoren zusätzlich eingeschränkt in Abhängigkeit der Tumorlokalisation. [79]

Deutliche Vorteile im Vergleich zum ^{18}F -FDG bieten hingegen Aminosäure-Tracer. Eine Vielzahl an Studien bestätigt bei Hirntumoren den Mehrwert einer ergänzenden PET-Bildgebung, sofern die geeigneten Tracer eingesetzt werden. Um dem aus der aktuellen Datenlage hervorgehenden hohen Stellenwert der PET-Bildgebung in der klinischen Neuroonkologie gerecht zu werden, hat die RANO Working Group kürzlich in Zusammenschluss mit der Europäischen Gesellschaft für Neuroonkologie (EANO) erstmals gesonderte Kriterien für die PET-Bildgebung bei Gliomen herausgegeben: Beide Gesellschaften empfehlen den Einsatz der PET-Bildgebung zu jedem Stadium der Erkrankung. [7] Allen voran drei Aminosäure-Derivate stehen im Fokus der Gliom-Bildgebung mittels PET: Das schwefelhaltige ^{11}C -S-Methyl-L-Methionin (^{11}C -MET), das ^{18}F -Fluoro-L-Dihydroxyphenylalanin (^{18}F -DOPA) und das ^{18}F -Fluoroethyl-L-Tyrosin (^{18}F -FET), welches sowohl aus logistischen Gründen als auch aufgrund seines Aufnahmeverhaltens deutliche Vorteile gegenüber ^{11}C -MET und ^{18}F -DOPA aufweist. Die klinische Bedeutung des ^{18}F -FET wird in der vorliegenden Dissertation gesondert behandelt (siehe Punkt 3.3). Die RANO-Empfehlungen fassen basierend auf der Datenlage sinnvolle Einsatzmöglichkeiten von ^{11}C -MET und ^{18}F -DOPA bei hirneigenen Tumoren zusammen: So erhöht eine ^{11}C -MET PET in Ergänzung zur MRT die diagnostische Genauigkeit bei der Differenzierung von Gliomen und nicht-neoplastischem Gewebe,

^{11}C -MET PET hat eine höhere diagnostische Genauigkeit als eine alleinige MRT für das Grading einschließlich Aufspüren anaplastischer Foci (allerdings mit Überlappungen der WHO-Grade) und sowohl mit ^{11}C -MET als auch ^{18}F -DOPA ist das metabolisch aktive Tumervolumen in der PET größer als vergleichbare Parameter in der MRT (beispielsweise Kontrastmittelaufnahme). Beide Tracer eignen sich in der PET besser als eine alleinige MRT-Bildgebung sowohl für die Differenzierung von Rezidiven und posttherapeutischen Veränderungen (beispielsweise Strahlennekrose) als auch für die Beurteilung von Therapieerfolgen. Auch prädiktive Aussagen werden in diesem Zusammenhang mittels PET ermöglicht. Nicht zuletzt lässt das Anreicherungsverhalten von ^{11}C -MET und ^{18}F -DOPA in der PET je nach WHO-Grad des Glioms bessere Aussagen über die Prognose zu als die alleinige MRT. [7]

Weitere teils vielversprechende PET-Tracer sind in der Erprobung für den klinischen Gebrauch bei hirneigenen Tumoren, ohne bisher jedoch den Stellenwert der etablierten Aminosäure-Tracer erreicht zu haben. Zu diesen Tracern gehören unter anderem ^{18}F -Fluoromisonidazol (^{18}F -FMISO), welches hypoxische Zellen maligner Tumoren darstellt, ^{18}F -Fluorothymidin (^{18}F -FLT), welches über die Zielstruktur Thymidinkinase-1 die erhöhte Zellproliferation von Tumoren abbildet, sowie TSPO-Liganden. [80] Letztere binden an das mitochondriale 18 kDa *Translocator Protein* (TSPO) und entstammen der PET-Bildgebung inflammatorischer Prozesse. Da TSPO in hirneigenen Tumoren hochreguliert ist, werden TSPO-Liganden neuerdings auch für die Bildgebung des Glioblastoms eingesetzt. [81]

Der neuroonkologische Einsatz der PET-Bildgebung beschränkt sich nicht auf hirneigene Tumoren wie das Glioblastom: Die Datenlage spricht für einen positiven Nutzen der PET-Bildgebung auch etwa bei zerebralen Metastasen oder bei Meningeomen. [82, 83] Insbesondere bei Letzteren spielen chemisch andersartige Tracer eine Rolle, z. B. ^{68}Ga -DOTATATE, durch das nicht der Aminosäureumsatz, sondern die Expression des Somatostatin-Rezeptors dargestellt wird. [84]

3.2.3 O-(2-¹⁸F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin (¹⁸F-FET)

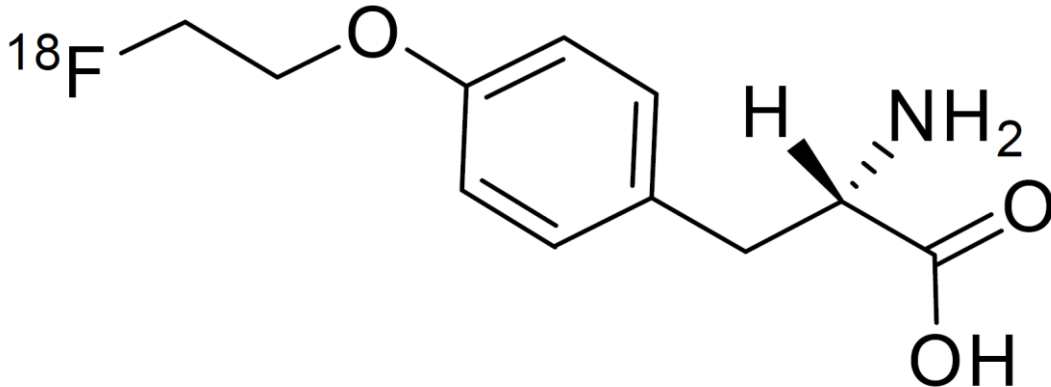


Abbildung 3.2.1 Strukturformel des O-(2-¹⁸F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin [85]

Ende der Neunzigerjahre wurde im Forschungszentrum Jülich erstmals O-(2-¹⁸F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin (¹⁸F-FET) erfolgreich hergestellt, 1999 publizierten Wester et al. Angaben zu seiner Herstellung und Radiopharmakologie. [86] ¹⁸F-FET ist ein mit dem Fluorisotop ¹⁸F markiertes Analogon der natürlichen Aminosäure L-Tyrosin (siehe Strukturformel des ¹⁸F-FET in Abbildung 3.2.1). Aufgrund der ausreichend großen Halbwertszeit von knapp 110 min kann es, ähnlich wie das ¹⁸F-FDG, außer Haus transportiert und somit auch in PET-Zentren ohne zugehörigem Zyklotron genutzt werden. Der genaue Aufnahmemechanismus des ¹⁸F-FET in die Tumorzellen ist nicht vollständig verstanden; vermutlich spielen Aminosäuretransporter (v. a. LAT1 und LAT2) eine tragende Rolle. [87] Die tumorale Aufnahmekinetik des ¹⁸F-FET unterscheidet sich in Abhängigkeit von der „Aggressivität“ des Hirntumors bzw. des betrachteten Areals in einem heterogenen Tumor (siehe Punkt 3.3.1), wobei auch für dieses Phänomen der genaue pathophysiologische Mechanismus noch nicht vollständig verstanden ist. Im Gegensatz etwa zu ¹¹C-MET wird ¹⁸F-FET nicht oder kaum in Proteine eingebaut. [88] Grundsätzlich scheint ¹⁸F-FET nicht mit spezifischen physiologischen Stoffwechselvorgängen zu interferieren. Für die Durchführung der ¹⁸F-FET PET sind keine unerwünschten „Nebenwirkungen“ bekannt und es konnte sowohl in Mäusen als auch im Menschen bezüglich den in der Praxis relevanten Dosen keine Toxizität festgestellt werden. Die effektive Dosis einer regulären diagnostischen

^{18}F -FET PET-Untersuchung liegt bei 0,0165 mSv / MBq mit der höchsten Bestrahlungsdosis im Bereich der Blasenwand. [89]

3.3 Rolle der ^{18}F -FET PET in der klinischen Neuroonkologie

^{18}F -FET ist für die PET-Bildgebung von hirneigenen Tumoren bestens geeignet und sein klinischer Nutzen im Bereich der Neuroonkologie ist durch eine Vielzahl an Studien belegt. [7] Einer der wesentlichen Vorteile des ^{18}F -FET gegenüber ^{11}C -MET ist die längere Halbwertszeit. Einer der wesentlichen Vorteile des ^{18}F -FET gegenüber ^{18}F -DOPA ist die ausbleibende (physiologische) Traceranreicherung im Striatum, welche eine Abgrenzung auch von tief gelegenen Tumoren im Bereich der Basalganglien ermöglicht.

3.3.1 Erst- und Differentialdiagnostik

Die ^{18}F -FET PET erhöht in Ergänzung zur MRT die diagnostische Genauigkeit bei der Differenzierung von Gliomen und nicht-neoplastischem Gewebe. [90, 91] Auch für das Grading von Gliomen und die Identifizierung anaplastischer Foci ist die diagnostische Genauigkeit der ^{18}F -FET PET gegenüber einer alleinigen MRT erhöht. Insbesondere dynamische ^{18}F -FET PET-Aufnahmen liefern hier wertvolle Zusatzinformationen für die Beurteilung der Tumoren. [92, 93] Anhand einer dynamischen PET-Untersuchung kann die Traceraufnahme über die Zeit beurteilt werden. Letztere wird schließlich über Zeit-Aktivitäts-Kurven veranschaulicht: Eine ansteigende Kinetik ist hierbei typisch für geringgradige Gliome, während eine abfallende Kinetik für das Vorliegen eines hochgradigen Tumors wie des Glioblastoms spricht (siehe Abbildung 3.3.1).

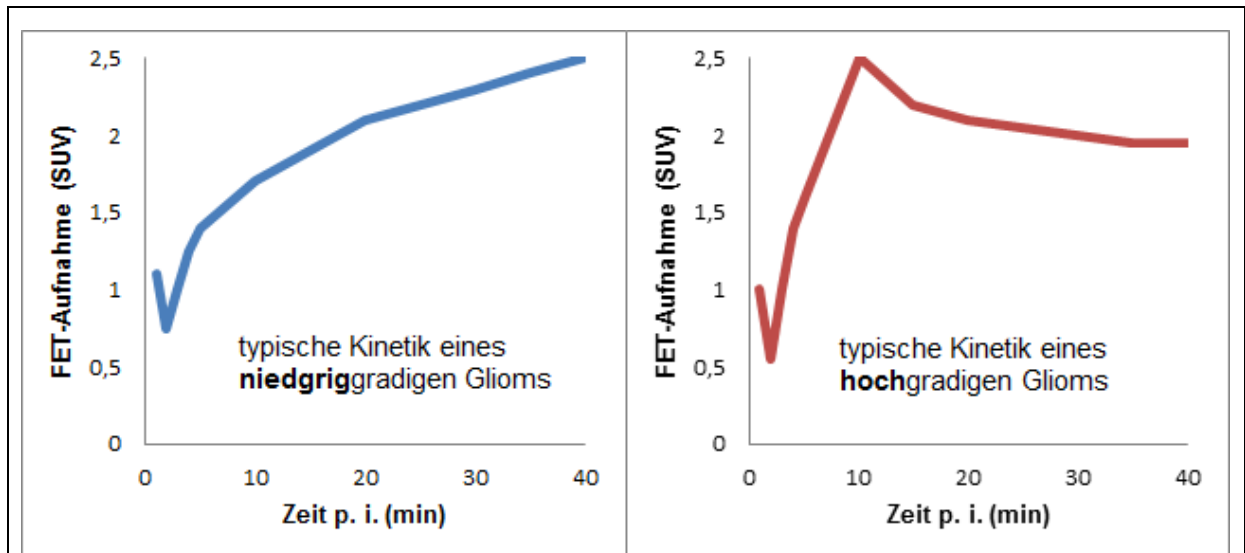


Abbildung 3.3.1 Typische Aufnahmekinetiken des ^{18}F -FET in Gliomen

Die über dynamische ^{18}F -FET PET-Aufnahmen generierten Zeit-Aktivitäts-Kurven geben Aufschluss über den Grad eines Glioms: Eine ansteigende Kurve spricht für einen niedrigen WHO-Grad (**blau**), eine abfallende für einen hohen WHO-Grad (**rot**).

Eine hohe Genauigkeit im Bereich des Gradings kann auch über die Kombination der dynamischen ^{18}F -FET PET mit der diffusionsgewichteten MRT erreicht werden. [94] Analog zu ^{11}C -MET und ^{18}F -DOPA ist das metabolisch aktive Tumervolumen in neudiagnostizierten Glioblastomen auch in der ^{18}F -FET PET größer als vergleichbare Parameter in der MRT (beispielsweise Volumen der Kontrastmittelaufnahme).

3.3.2 Verlaufsdagnostik und Prognose

Die ^{18}F -FET PET ermöglicht eine Differenzierung von Rezidiven und posttherapeutischen Veränderungen (beispielsweise Strahlennekrose) und eignet sich hierfür besser als eine alleinige MRT-Bildgebung. [95, 96] Auch für das Monitoring von Therapieerfolgen ist die ^{18}F -FET PET der MRT bisweilen überlegen: So ist ein Therapieerfolg sowohl nach Chemotherapie, Strahlentherapie als auch Bevacizumab-Gabe in der ^{18}F -FET PET zu früheren Zeitpunkten als in der MRT messbar und eine frühe metabolische Antwort in der ^{18}F -FET PET ein prognostisch günstiger Faktor. [97-99] Das biologische Tumervolumen in der ^{18}F -FET PET ist auch bei untherapierten Glioblastomen ein starker und von anderen Prognosefaktoren

unabhängiger Biomarker sowohl für das progressionsfreie als auch für das Gesamtüberleben. [100] Die dynamische ^{18}F -FET PET eignet sich über eine Auswertung der Zeit-Aktivitäts-Kurven besonders gut für eine Einschätzung der Prognose und ist der MRT diesbezüglich überlegen. [101]

3.3.3 Allgemeine Limitationen

Einschränkend ist zu bedenken, dass nicht sämtliche Gliome in der PET primär ^{18}F -FET-positiv erscheinen. Bis zu einem Drittel der Tumoren ist primär ^{18}F -FET-negativ bzw. sogar ^{18}F -FET-hypometabol – dieses Phänomen tritt allerdings hauptsächlich in niedriggradigen Gliomen und selten in Glioblastomen auf. [102] Selbst in diesen Fällen liefert ein Monitoring mittels ^{18}F -FET PET wertvolle Zusatzinformationen: So kann der Übergang in einen ^{18}F -FET-positiven Tumor eine maligne Transformation aufdecken. [102, 103] Weiterhin gilt es zu bedenken, dass auch die ^{18}F -FET PET nicht zu 100 % spezifisch für (höhergradige) Gliome ist, sondern klinisch wichtige Beiträge auch bei Metastasen und anderen pathologischen Prozessen liefern kann. [104] Ein weiterer Nachteil ist die bisher fehlende präklinische Etablierung der ^{18}F -FET PET, welche in der Nuklearmedizin ansonsten übliche translationale Ansätze von Maus zu Mensch (und vice-versa) behindert. Dies kann diagnostische und therapeutische Fortschritte erheblich verzögern und unterstreicht den Wert einer umfassenden präklinischen Betrachtung der ^{18}F -FET PET.

4 Tierexperimenteller Teil

Die im Folgenden vorgestellten Originaldaten fassen die wesentlichen Erkenntnisse der im Rahmen der vorliegenden Dissertation durchgeführten umfassenden Tierexperimente zusammen und stellen das Kernstück der Arbeit dar. Ihnen vorausgehend hat der Autor bereits im Jahre 2014 mit den ersten Pilotversuchen zur Etablierung der logistischen Voraussetzungen und der grundlegenden Methodik begonnen. Diese seien hier nur kurz zusammengefasst: Es wurden zunächst Analysen zur Ermittlung der am besten geeigneten Zellzahl für die Erstellung des GL261-Tumormodells durchgeführt in Hinblick auf geeignete Messzeitpunkte für das *in vivo* Imaging mittels ^{18}F -FET PET. In enger Abstimmung mit dem Tumorbologischen Labor der Abteilung für Neurochirurgische Forschung an der LMU München und unter strenger Beachtung des Tierschutzes konnten hierbei 50 000 GL261-Zellen als optimale Inokulationszahl für die geplanten Versuche der vorliegenden Dissertation festgestellt werden. Das schlussendlich gewählte Tiermodell ist in Punkt 4.1.2 beschrieben. Für die unmittelbar auf das PET-Imaging folgenden Autoradiographien wurden verschiedene Protokolle der Gewebefixierung gegeneinander getestet und das weiter unten in Punkt 4.1.4 beschriebene als das am besten geeignete befunden. Die Rekonstruktionsparameter der PET-Daten wurden in Zusammenarbeit mit den Medizinphysikern des eigenen Instituts erarbeitet und optimiert. Verschiedene Tracermengen wurden in Pilotversuchen zur Ermittlung der am besten geeigneten Menge für die anschließenden Versuche appliziert. Die finalen PET-Protokolle, Traceraktivitäten sowie die Rekonstruktionsparameter der PET-Daten sind in Punkt 4.1.3 aufgeführt.

Die Tierexperimente der vorliegenden Dissertation haben den Grundstein für zahlreiche tierexperimentelle Folgeprojekte zur PET-Bildgebung des Glioblastoms gelegt. So dient die in der vorliegenden Arbeit etablierte Methodik für das murine ^{18}F -FET PET-Imaging als Referenz für die präklinische Erforschung neuartiger neuroonkologischer PET-Tracer am eigenen Institut; hiermit allein befassen sich aktuell zwei Doktoranden. Das nun mehr etablierte Gesamtsetting ermöglicht außerdem die präklinische Erforschung von Radionuklidtherapien für Hirntumoren am eigenen Standort, womit aktuell ein weiterer Doktorand betraut ist. Des Weiteren ermöglichen die Erkenntnisse zum Monitoring von Tumorwachstum aus der

vorliegenden Dissertation die Beurteilung des Therapieansprechens von experimentellen Hirntumorthérapien. Entsprechende präklinische Studien auf Grundlage der vorliegenden Dissertation sind unter Beteiligung des Autors bereits initiiert. Die Fülle an durchgeführten dynamischen ^{18}F -FET PET-Messungen in der vorliegenden Dissertation erlaubt des Weiteren kinetische Analysen der ^{18}F -FET-Aufnahme in Hirntumoren auch im präklinischen Setting. Unter Beteiligung des Autors wurden im Sonderforschungsbereich 824 der Deutschen Forschungsgemeinschaft bereits Vergleiche präklinischer Hirntumormodelle bezüglich der ^{18}F -FET-Tracerkinetik in der PET initiiert und zeigen vielversprechende erste Ergebnisse.

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Tierversuchsgenehmigung und Tierhaltung

Versuchsplanung und Genehmigung

Sämtliche Tierversuche im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden mit Genehmigung der Regierung von Oberbayern nach §8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes durchgeführt und von einer Tierärztin überwacht. Der Autor der vorliegenden Dissertation verfügt über die versuchstierkundliche Sachkunde bzw. sowohl über die theoretischen als auch praktischen Kenntnisse und Fähigkeiten gemäß Anlage 1 Abschnitt 3 der Tierschutzversuchsverordnung.

Die biometrische Planung wurde unter statistischer Beratung des Instituts für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE) der Ludwig-Maximilians-Universität München vorgenommen.

Für alle Versuche wurde gemittelt mit einer Dropout-Rate von ca. 15 % gerechnet. Diese ist begründet zum einen durch potentielle Narkosezwischenfälle, zum anderen kann es zu Fehlapplikationen der Radiotracer (v. a. paravenöse Injektionen) kommen, sodass die betroffenen PET-Daten anschließend nicht in die Auswertung miteinbezogen werden können. Weitere Ausfälle können durch die weiter unten aufgeführten Abbruchkriterien entstehen.

Tierhaltungsbedingungen

Die Mäuse wurden in einzelbelüfteten Käfigen (*Individually Ventilated Cage, IVC*, Käfig Typ III „Blueline“) gehalten mit einer Besatzdichte von maximal sechs erwachsenen Tieren (à ca. 25 g Körpergewicht). Die Luftfeuchtigkeit betrug 55-65 % rH und die Temperatur um die 25 °C. Die Mäuse waren einem festen Wechsel der Beleuchtung (12h-hell / 12h-dunkel) ausgesetzt, um der zirkadianen Rhythmik gerecht zu werden. Die Mäuse erhielten als standardisiertes Alleinfutter keimfreie Futterpellets (Ssniff R/M Haltung, Spezialdiäten GmbH) sowie Leitungswasser *ad libitum*. Als staubfreies Einstreu diente Weichholzgranulat und es befanden sich zusätzlich Nestbaumaterial (Nestlets, Firma Ssniff) sowie rote Maushäuser, rote Mausrollen und Iglus (Firma Tecniplast) als Enrichment in jedem Käfig. Sämtliche Parameter wurden täglich überprüft.

Hygienemanagement

Die Versuchstiere wurden aus einer pathogenfreien Zucht bezogen und in IVC-Systemen gehalten. Das aktuelle Gesundheitszeugnis des Lieferanten wurde bei Anlieferung geprüft und wies keine pathogenen Erreger für die Versuchstiere auf. Für sämtliche Tiere des für die vorliegende Dissertation benutzten Tierstalls wird vierteljährlich eine Überprüfung des Gesundheitsstatus nach den Richtlinien (2014) der FELASA durch ein externes Labor durchgeführt (GIM, Gesellschaft für innovative Mikroökologie mbH, Brandenburg; viermal pro Jahr, davon einmal erweitertes Erregerspektrum). Ein bis zwei Mal wöchentlich fand ein Käfigaustausch statt. Die Trinkflaschen wurden einmal in der Woche ausgetauscht.

Schutzmaßnahmen und Abbruchkriterien

Für geplante Versuchsschritte mit zu erwartenden Schmerzen wurden folgende Analgesie-Protokolle verfolgt:

- Tumorinokulation: 100 mg/kg KG Ketamin HCl 10 % + 10 mg/kg KG Xylazin HCl 2 %
- Hautnaht: Bupivacainspray
- Post-OP: Meloxicam 1-2 mg/kg KG s. c. (Tag 0+1)
- Tötung: gewichtsadaptiert 300-500 µl v. Ketamin 4 ml / Xylazin 1 ml / NaCl 0,9 % 24 ml

Zur Beurteilung der Belastung wurde ein sogenanntes Score Sheet erstellt, welches verschiedene Arten der Belastung erfasst und u. a. folgende Bereiche einschließt: Gewichtsverlust, Allgemeinzustand, Haltung, Verhalten, Schwanz, Wundheilung, neurologische Symptome durch Tumorwachstum und den Body Condition Score (BCS). Für jede Belastungskategorie wurden Merkmale aufgelistet und mit 0 (keine Belastung) bis 20 (sehr hohe Belastung) Punkten versehen. Je nach Summe der Punkte wurde wie folgt verfahren:

- 0 Punkte: Keine Maßnahmen.
- Ab 1 bis 9 Punkte: Genaue Beobachtung des Verhaltens bzw. der vermuteten oder tatsächlich vorgefundenen Anomalität. Zusätzlich erhielt die Maus bei Bedarf unterstützende Maßnahmen (etwa Wärmezufuhr, zusätzlich eingeweichtes Futter). Ggf. Analgesie (Buprenorphin 0,05 mg/kg KG i. p., max. 3 Mal im Abstand von 4-6 Stunden bzw. bei Schmerztherapie über Nacht bis zu 0,3 mg/ml Buprenorphin gelöst in 160 ml Trinkwasser).
- 10-19 Punkte: Konsultation des Tierarztes.
- Ab 20 Punkten: Sofortiger Abbruch und schmerzlose Euthanasie.

4.1.2 Tiermodell

Das murine GL261-Gliommodell stellt einen häufig verwendeten Standard für die experimentelle Glioblastom-Forschung dar. [105] In der Regel werden die GL261-Zellen hierbei in immunkompetente Mäuse der Stamms C57BL/6 (sogenannte „*black 6*“-Mäuse; abgekürzt „*B6*“) inokuliert.

Mäuse

Acht Wochen alte weibliche Mäuse des Stamms C57BL/6 wurden von Charles River Laboratories, Sulzfeld, bezogen. Das Körpergewicht der Mäuse lag bei ca. 23-27 g. Nach Anlieferung haben die Mäuse vor Versuchsbeginn eine mindestens einwöchige Eingewöhnungszeit an die neue Umgebung genossen.

Entsprechend der Fragestellungen wurden grundsätzlich zwei Arten von Mäusen unterschieden:

- **Tumormäuse**: Diese Mäuse erhielten jeweils 50 000 GL261-Tumorzellen in 1 µL NaCl in das rechte Frontalhirn inokuliert.
- **Kontrollmäuse / shams**: Diesen Mäusen wurden ausschließlich je 1 µL NaCl ohne Tumorzellen in dieselbe Hirnregion injiziert.

Zellen und Zellkultur

GL261 ist eine karzinogen-induzierte maussyngene Zelllinie; GL261-Zellen tragen Punktmutationen in den Genen für K-ras und p53 und eignen sich für die Erstellung sowohl subkutaner als auch orthotoper Tumormodelle. [105] Die GL261-Tumorzellen für die Experimente der vorliegenden Dissertation wurden vom National Cancer Institute in Frederick, Maryland, USA, bezogen.

Als Medium wurde Dulbecco's Modified Eagle's Minimal Essential Medium (DMEM) genutzt. Dies ist eine Abwandlung des Eagle's Minimal Essential Mediums (EMEM) und enthält eine im Vergleich zu letzterem erhöhte Menge an Vitaminen, (nicht-essentiellen) Aminosäuren und Glukose sowie zusätzlich Eisen und den Triphenylmethanfarbstoff Phenolrot als pH-Indikator. [106] Des Weiteren im Nährmedium enthalten waren eine 1:100 Penicillin-Streptomycin-Lösung und 10 % fetales Kälberserum (FCS). Das Medium wurde alle 2 Tage gewechselt.

Kultivierung

Die GL261-Zellen wurden in DMEM bei 5 % CO₂ im Inkubator bei 37 °C unter erhöhter Luftfeuchtigkeit kultiviert. Sobald die Zelldichte 80 % Konfluenz erreicht hat, wurden nach Zellpassage Tochterkolonien erzeugt: Hierzu wurde zunächst das Medium abgesaugt, dann mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) das überbleibende Medium abgespült. Nachdem in PBS gelöstes Trypsin auf die Zellen gegeben wurde, wurde weiter bei 37 °C inkubiert, bis die Zellen sich abgelöst haben. Anschließend wurde neues Medium zugegeben und die Medium-Zell-Suspension nach mehrmaligem Aspirieren und Ausspritzen erneut auf Petrischalen verteilt und bei 37 °C inkubiert.

Orthotope Tumorzellinokulation

Vor dem Eingriff erhielten die Mäuse zunächst eine Anästhesie bestehend aus je 100 mg/kg KG Ketamin HCl 10 % und 10 mg/kg KG Xylazin HCl 2 % i. p.. Die Augen wurden durch topische Applikation einer Augensalbe (Bepanthen) vor der Austrocknung bewahrt. Zusätzlich erhielten die Mäuse eine Lokalanästhesie im Bereich der Bohrlochtrepation in Form von Bupivacain-Spray. Atmung und Körpertemperatur der Mäuse wurden während der Narkose kontinuierlich überwacht. Vor Beginn des Eingriffs wurde sichergestellt, dass die gewünschte Narkosetiefe

gegeben ist: Hierzu wurde mit einer chirurgischen Pinzette der Zwischenzeh-Reflex geprüft. Erst als dieser zweifelsfrei erloschen war, wurde mit dem chirurgischen Eingriff begonnen. Die Mäuse wurden in einem stereotaktischen Ring (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA) fixiert, siehe Abbildung 4.1.1.

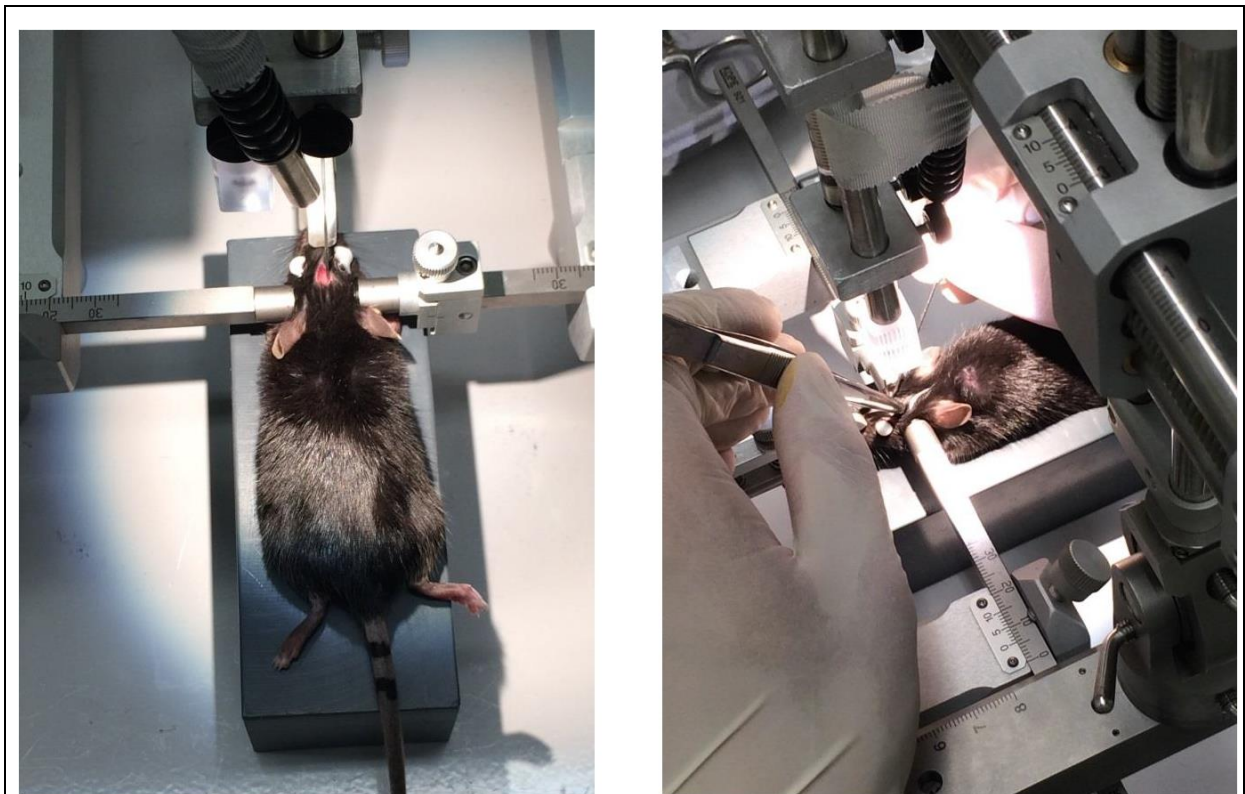


Abbildung 4.1.1 Orthotope Tumorzellinokulation

Für die rechtsfrontale Inokulation der Tumorzellen wurden die Mäuse in tiefer Narkose in einen stereotaktischen Rahmen eingespannt. **Links:** Inokulation in der Ansicht von hinten oben. **Rechts:** Begutachtung der Trepanationsstelle in der Ansicht von links oben.

Die Kopfhaut wurde nach lokaler Desinfektion mit 7,5 % Braunol-Lösung (Braun) rechts-frontal linear inzidiert und es wurde eine im Durchmesser ca. 1,0 mm große Bohrlochtrepantation vorgenommen. Die Koordinaten der Trepanation sind 1,5 mm nach rechts-lateral und 1,0 mm nach frontal ausgehend vom Bregma. Anschließend wurde die Dura inzidiert und es wurden 5×10^4 GL261-Zellen in 1 μ L PBS (Tumormaus) oder ausschließlich 1 μ l PBS ohne Tumorzellen (Kontrollmaus)

stereotaktisch in einer Tiefe von ca. 5,0 mm mittels einer 22 Gauge Glasspritze (Hamilton, Bonaduz, Schweiz) in das rechte Frontalmark injiziert. Die Injektion wurde gleichmäßig über den Zeitraum von zwei Minuten vorgenommen. Anschließend wurde die Spritze in Schritten von 1,0 mm pro Minute aus dem Schädel heraus zurückgezogen. Die Hautnaht wurde mit atraumatischen monofilen Fäden vorgenommen und noch vor Erwachen aus der Narkose wurde die Nahtstelle mit Bupivacain-Spray versorgt. Im Anschluss an den Eingriff erhielten die Mäuse am OP-Tag selbst sowie am ersten postoperativen Tag 1-2 mg/kg KG Meloxicam s. c. Sowohl während der Einschlafphase als auch in Narkose lagen die Mäuse direkt einer Wärmematte auf. Die Zeit bis zum vollständigen Aufwachen verbrachten die Mäuse in einem auf einer Wärmematte stehenden Käfig. Nach Wiederauftreten von Appetenz- und Putzverhalten als Zeichen des wiedereingetretenen Wachzustandes wurden die Mäuse in den Heimatkäfig zurückversetzt.

4.1.3 PET

Ablauf der PET-Untersuchung

Die Mäuse wurden aus ihren Heimatkäfigen herausgehoben und gewogen (das Körpergewicht wird im Anschluss an den Scan für die gewichtsadaptierte Quantifizierung der PET-Daten benötigt). Daraufhin wurde eine Isoflurannarkose in einer Narkosekammer begonnen (2,5 % Vol. bei 2,0 l/min O₂). Die Augen wurden durch topische Anwendung einer Augensalbe (Bepanthen) vor Austrocknung bewahrt. Sowohl während der Einschlafphase als auch in Narkose lagen die Mäuse direkt einer Wärmematte auf. Nach der Narkoseeinleitung, d. h. während der Vorbereitung des Scans sowie der PET-Untersuchung selbst, wurde die Narkose über eine Maske appliziert (Isofluran 1,5 % Vol. bei 3,5 l/min O₂). Atmung und Körpertemperatur (Messung über Rektalthermometer) wurden kontinuierlich überwacht. Es wurde sichergestellt, dass die gewünschte Narkosetiefe gegeben ist: Hierzu wurde mit einer chirurgischen Pinzette der Zwischenzeh-Reflex geprüft. Erst als dieser zweifelsfrei erloschen war, erfolgte die Katheterisierung einer der beiden lateralen Schwanzvenen mit einer Venenverweilkanüle (30 G Nadel, 7 cm Plastikschlauch, 30 G Aufsatz, Entlüftung durch 0,9 % Kochsalzlösung). Anschließend wurden $14,7 \pm 2,3$ MBq ¹⁸F-FET in 150 µl PBS über die Schwanzvene appliziert. Der Tracer wurde aus der Routine-Produktion für die Klinik bezogen (PET

NET, Erlangen [86]). Nach Platzierung der Maus auf dem Kleintier-PET-Scanner (Siemens Inveon DPET) folgte eine dynamische PET-Aufnahme über einen Zeitraum von 0-40 Minuten p. i. für die Emission und von weiteren 7 Minuten für die Transmission mittels rotierender ^{57}Co -Quelle (Gesamtzeit der dynamischen PET-Messung: 47 Minuten). Im Anschluss an die PET-Untersuchung wurden die Mäuse zur Nachbeobachtung der Narkose in einen Käfig mit Nestbaumaterial gesetzt und weiterhin durch eine Wärmematte gewärmt. Nach Wiederauftreten von Appetenz- und Putzverhalten als Zeichen des wiedereingetretenen Wachzustandes wurden die Mäuse in den Heimatkäfig zurückversetzt.

Rekonstruktion der PET-Daten

Auf die Rohdaten der PET-Messung wurde eine dreidimensionale *Ordered Subset Expectation Maximization* (OSEM) mit vier Iterationen und zwölf Unterschritten angewandt, gefolgt von einem *Maximum-a-posteriori*-(MAP)-Algorithmus mit 32 Iterationen. Es wurden sowohl Streuungs- und Schwächungskorrekturen vorgenommen als auch eine Zerfallskorrektur für ^{18}F durchgeführt. Mit einer Matrix von $256 \times 256 \times 159$ und einem Zoom-Faktor von 1,0 konnte letztendlich eine Voxeldimension von $0,39 \text{ mm} \times 0,39 \text{ mm} \times 0,80 \text{ mm}$ erreicht werden. Für die manuelle Ko-Registrierung der PET-Bilder auf ein 3 Tesla MRT-Template und die intraindividuell konsistente Ausrichtung der longitudinalen PET-Messungen wurde das Fusionstool des Software-Programms PMOD genutzt (Version 3.4; PMOD Technologies Ltd. [107]). Die Emissionsaufnahmen wurden in zwei Zeitfenster à 20 Minuten aufgeteilt: Das Zeitfenster 20-40 min p. i. wurde für die weiteren Auswertungsschritte herangezogen.

Auswertung der PET-Bilddaten und Bestimmung der VOIs

Für sämtliche Auswertungen und Bearbeitungen an den PET-Bildern selbst wurde das Programm PMOD genutzt (Version 3.4; PMOD Technologies Ltd.). Für die VOI-basierten Analysen wurde die Hintergrund-Aktivität über eine 123 mm^3 große VOI (Hintergrund-VOI, Abbildung 4.1.2) in der kontralateralen Hemisphäre erfasst.

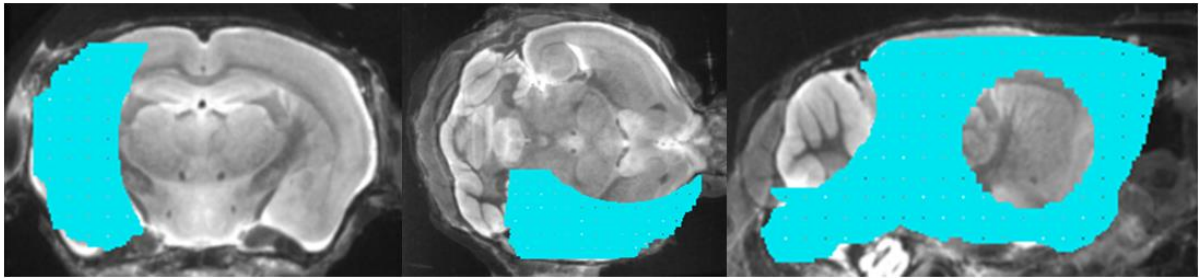


Abbildung 4.1.2 Hintergrund-VOI

Dreidimensionale Ansicht der uniformen – d. h. für alle Scans in Form, Volumen und Lokalisation identischen – Hintergrund-VOI mit einer Größe von 123 mm³. Die VOI wurde in die kontralaterale tumorfreie Hemisphäre gelegt. Etwaiger Spill-In des Knochens wurde ausgeschlossen. [108]

Für die quantitative Auswertung wurde zunächst eine uniforme Tumor-VOI benutzt (siehe Abbildung 4.2.6); in einem zweiten Ansatz wurden Grenzwert-basierte VOIs erstellt. Schließlich wurden noch individuelle Tumor-VOIs mittels individuell definiertem Grenzwert erstellt ("individuelle Tumor-VOI") und das auf diese Weise entstandene biologische Tumolvolumen in jeder Maus einzeln mit dem korrespondierenden histologischen Tumolvolumen abgeglichen (für weitere Ausführungen siehe auch Punkt 4.4).

Als weitere quantitative Parameter der Bilddatenanalyse wurden die mittlere Tracer-Aufnahme im Zielgebiet (*mean standardized uptake value*, SUV_{mean}) und die maximale Tracer-Aufnahme im Zielgebiet (SUV_{max}) berechnet. Als Zielgebiet wurde zunächst in jedem Scan die uniforme Tumor-VOI und in einem zweiten Schritt die individuelle Tumor-VOI betrachtet. Sämtliche Werte wurden über die Hintergrund-Aktivität im gesunden Hirn (Hintergrund-VOI) korrigiert und ein Tumor-zu-Hintergrund-Quotient gebildet (*tumor-to-background ratio*; TBR_{mean} und TBR_{max}). SUV_{max}, SUV_{mean}, TBR_{max} und TBR_{mean} sind sowohl in Klinik als auch Präklinik gängige Parameter für die Auswertung onkologischer PET-Aufnahmen. [109]

4.1.4 Intrakardiale Perfusion und Tötung

Nach Durchführung der planmäßig letzten (longitudinalen) PET-Messung wurde an den Mäusen in tiefer Narkose (Narkosestadium III, gewichtsadaptiert 300-500 µl Ketamin 4 ml / Xylazin 1 ml / NaCl 0,9 % 24 ml) eine Thorakolaparotomie vorgenommen und eine 20 G-Kanüle in die linke Herzkammer platziert. Für die anschließende Perfusion wurde eine peristaltische Pumpe genutzt, welche mit einem 3-Wege-Hahn und Infusionsschläuchen mit je einem Gefäß mit 10 ml PBS bzw. 4 % Paraformaldehyd (PFA) verbunden war. Der Auslassschlauch der Pumpe wurde mit der intrakardialen Kanüle verbunden. Nach Inzision des rechten Vorhofs oder der unteren Hohlvene wurde anschließend über die intrakardiale Kanüle PBS in das Gefäßsystem eingeflößt, um das Blut aus der Maus auszuwaschen. Die Entleerung des Bluts ließ sich unter anderem über die deutlich erkennbare Erblässung der Leber feststellen. Unmittelbar im Anschluss wurde über ein Umstellen des 3-Wege-Hahns PFA intrakardial perfundiert zur Fixierung des Hirngewebes über das Gefäßsystem. Nach der abgeschlossenen PFA-Fixierung wurde die Maus dekapitiert und das Maushirn unter Vermeidung jeglicher Verletzungen vorsichtig aus dem Schädel herauspräpariert. Schlussendlich wurde das Gehirn der Maus in Tissue Tec eingebettet, um anschließend für die Autoradiographie bzw. Histologie weiter prozessiert werden zu können. Die Platzierung der intrakardialen Kanüle sowie die Freipräparation des Schädels sind in Abbildung 4.1.3 wiedergegeben.

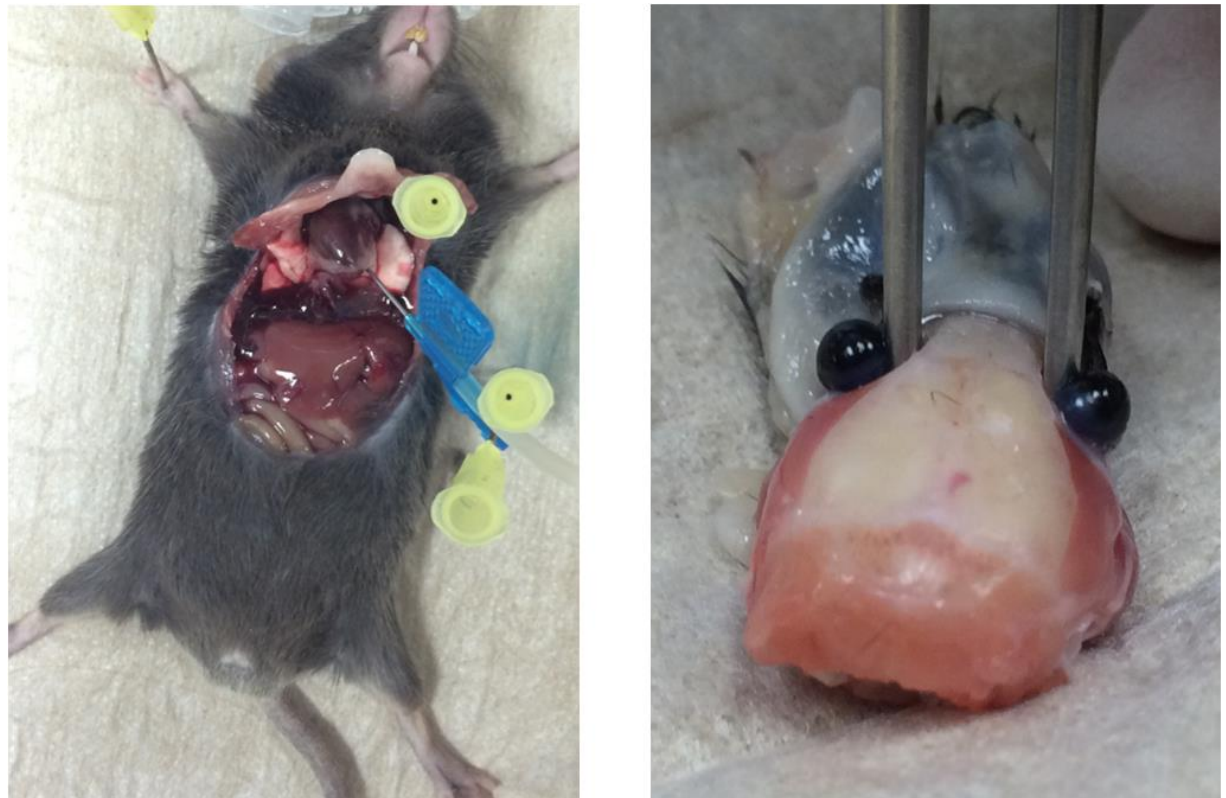


Abbildung 4.1.3 Perfusion und Hirnpräparation

Links sind der eröffnete Thorax und das Abdomen einer tief narkotisierten Maus zu sehen. Die Kanüle ist in der linken Herzkammer platziert und pumpt zunächst PBS und anschließend PFA durch das Blutgefäßsystem. Die untere Hohlvene ist inzidiert, um das Blut bzw. PBS abfließen zu lassen. **Rechts** wird die chirurgische Präparation des Schädels gezeigt. Rechtsfrontal auf der Kalotte ist weißschimmernd die Trepanationsstelle zu erahnen.

4.1.5 Autoradiographie

Aufgrund des kontinuierlichen radioaktiven Zerfalls des ^{18}F -FET wurde großer Wert darauf gelegt, dass die *ex vivo* ^{18}F -FET Autoradiographie in unmittelbarem Anschluss an den PET-Scan und die intrakardiale Perfusion erfolgt ist. Die Euthanasie der Maus hat jeweils innerhalb von 65 min nach Injektion des Tracers stattgefunden. Die herauspräparierten Hirne (siehe hierzu auch Punkt 4.1.4) wurden in Tissue Tec eingebettet und zunächst für nicht mehr als 5 min in einem $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -Kühlschrank heruntergekühlt. In einem Leica CM 1510-1 Cryostat (Leica Microsystems, Nussloch)

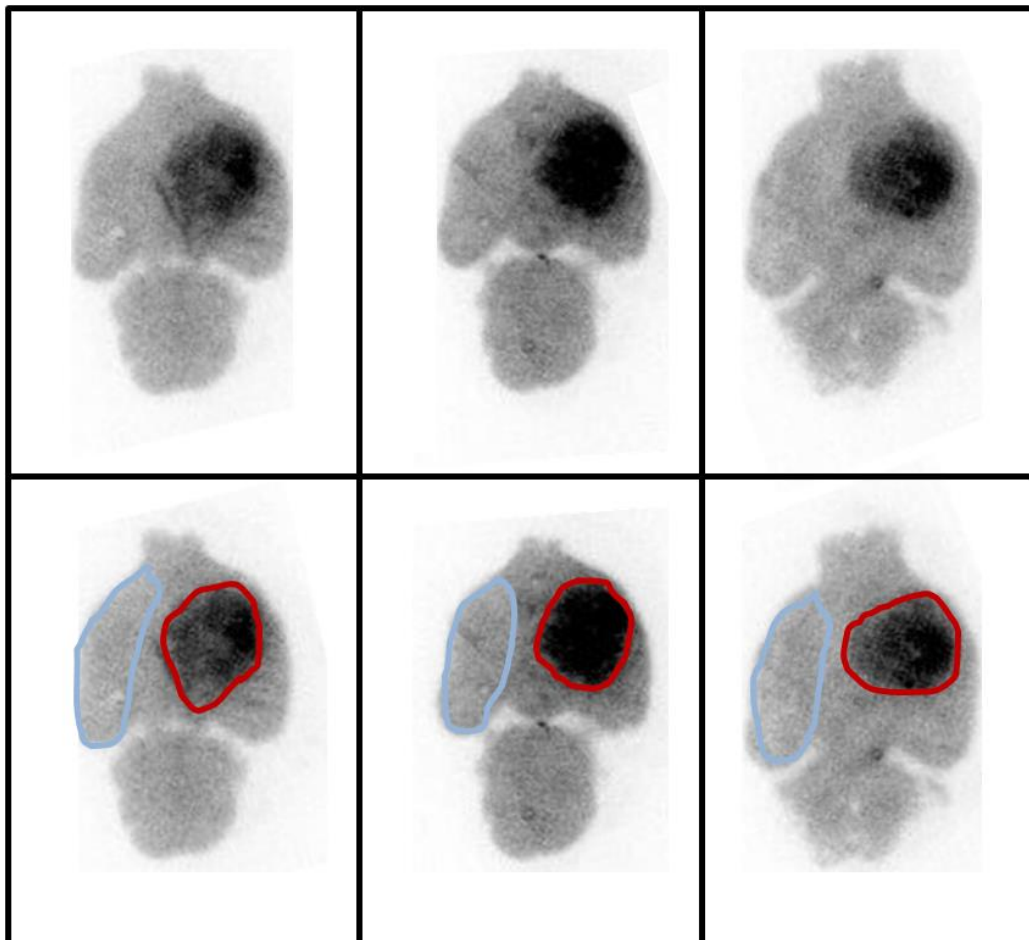


Abbildung 4.1.4 Manuelle ROI-Definition in der Autoradiographie

Oben drei beispielhafte Schnitte einer ^{18}F -FET *ex vivo* Autoradiographie einer tumortragenden Maus (4 Wochen nach Inokulation von 50 000 GL261-Zellen). **Unten** dieselben drei Schnitte mit der jeweils manuell eingezeichneten Tumor-ROI (rot) und der im kontralateralen gesunden Hirn liegenden Hintergrund-ROI (blau).

wurden die Hirne weitere 10 Minuten bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurden horizontale Schnitte des Mausgehirns mit einer Schnittdicke von $16\text{ }\mu\text{m}$ in einem Leica CM 1510-1 Cryostat (Leica Microsystems, Nussloch) angefertigt. Jeder 24. Hirnschnitt wurde nun (innerhalb von 75 Minuten *post mortem*) auf Objektträger aufgezogen und eine Filmkassette (Fujifilm; BAS cassette2 2025) wurde für 15 Stunden auf die Hirnschnitte aufgelegt. Die Autoradiographie wurde mit einer Auflösung von $25\text{ }\mu\text{m}$ durchgeführt (Raytest, CR 35 BIO, Dürr Medical, Deutschland). Die auf diese Weise erhobenen Bilddaten wurden anschließend mit dem Programm AIDA (V4.50) ausgewertet. Der Tumor wurde mittels manueller Einzeichnung von Zielregionen (*regions of interest*, ROIs) eingeschlossen und in die kontralaterale tumorfreie Hemisphäre wurde eine Hintergrund-ROI gelegt (siehe Abbildung 4.1.4). Mithilfe von Tumor- und Hintergrund-ROI wurde über die mittlere radioaktive Konzentration pro mg Gewebeäquivalent ein autoradiographischer TBR_{mean} errechnet. Pro Maus konnten durchschnittlich mehr als 15 Hirnschnitte in die Auswertung eingeschlossen werden. Abschließend wurde der prozentuale Fehler für die unkorrigierten und Partialvolumeneffekt-korrigierten *in vivo* PET-Daten bestimmt im Vergleich zu den hochauflösenden Ergebnissen der *ex vivo* Autoradiographie.

4.1.6 Histologie

Fixierung und Entnahme des Hirns sind in Punkt 4.1.4 geschildert. Die weitere Gewebeprozessierung und das Anfertigen der Hirnschnitte sind in Punkt 4.1.5 beschrieben. Sämtliche Hirnschnitte wurden für die histologischen Analysen mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt (siehe Abbildung 4.1.5 und Abbildung 4.2.5). Die Färbung wurde entweder unmittelbar nach der *ex vivo* Autoradiographie oder aber nach einer zwischenzeitlichen Lagerung im $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -Kühlschrank durchgeführt. Für die weitere Auswertung wurden Übersichtsaufnahmen der Tumoren angefertigt (3-CCD Color Video Camera von Sony, Tokyo, Japan; Axioskop 2-Mikroskop von Zeiss, Jena, Germany; $1.25\times$ (0.04NA) PlanApo N Objektiv Linse von Olympus, Tokyo, Japan). Das Programm ImageJ (National Institutes of Health, USA) wurde für die Bilddatenauswertung genutzt. Über manuelle ROIs wurden die Tumoren einzeln eingegrenzt (siehe Abbildung 4.1.5). Nach dem Satz des Cavalieri wurde das histologische Tumolvolumen stereologisch errechnet (ROIs von jedem 24. Hirnschnitt). [110]

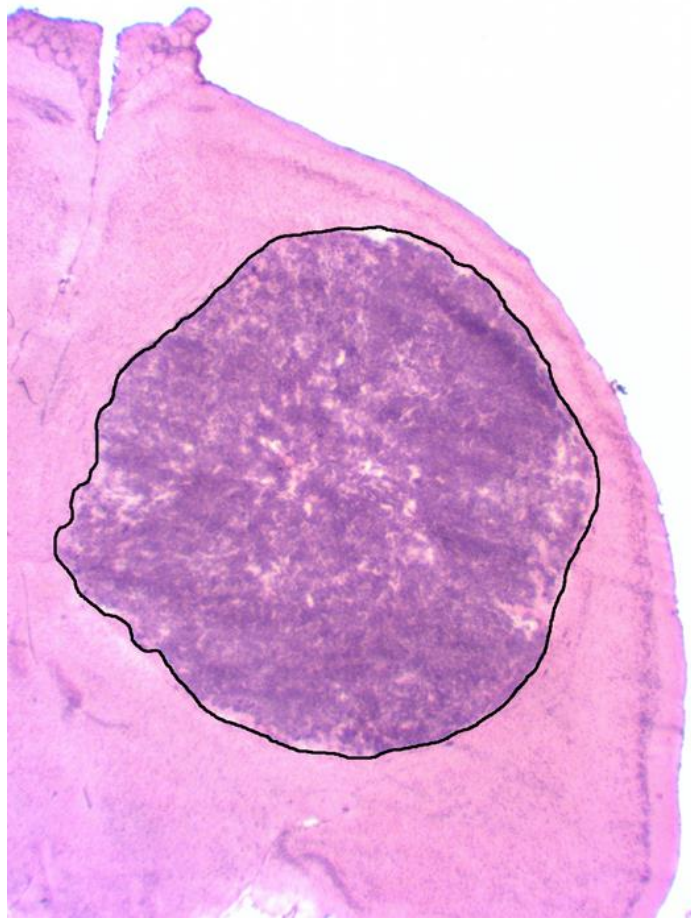


Abbildung 4.1.5 HE-Schnitt mit manuell eingezeichneter Tumor-ROI

Die Flächen der ROIs wurden zur Berechnung der histologischen Tumolvolumina nach dem Satz des Cavalieri benutzt. [110]

4.1.7 Statistische Auswertung

Die Varianzanalyse für den Vergleich der PET-Ergebnisse (TBR_{max} , TBR_{mean} , BTV) zwischen den altersbezogenen Gruppen wurde mittels einfacher ANOVA und Tukey post-hoc Test mit IBM SPSS 22 oder IBM SPSS 25 Statistics durchgeführt. Pearsons Korrelationskoeffizient (ρ) wurde für Korrelationsanalysen verwendet. Lineare, logarithmische und quadratische Regressionsanalysen (SPSS) wurden für die Assoziation von BTV-Progression und Zeit durchgeführt. Das beste Modell der Kurvenanpassung wurde durch den höchsten p -Wert bestimmt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

4.2 Ergebnisse:

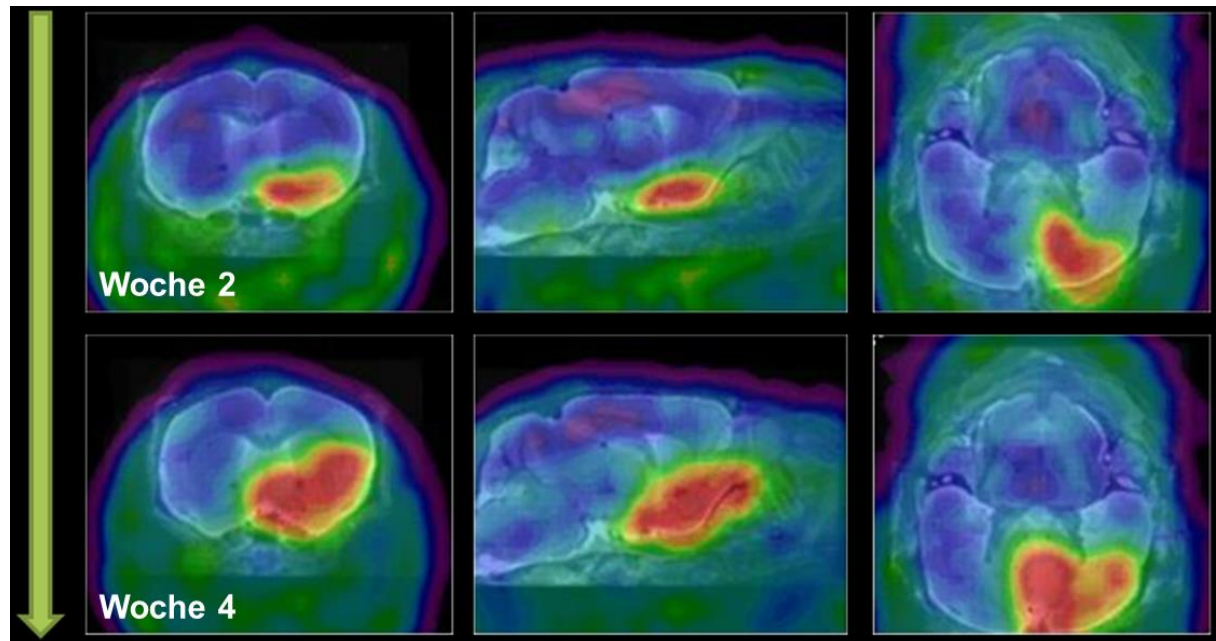
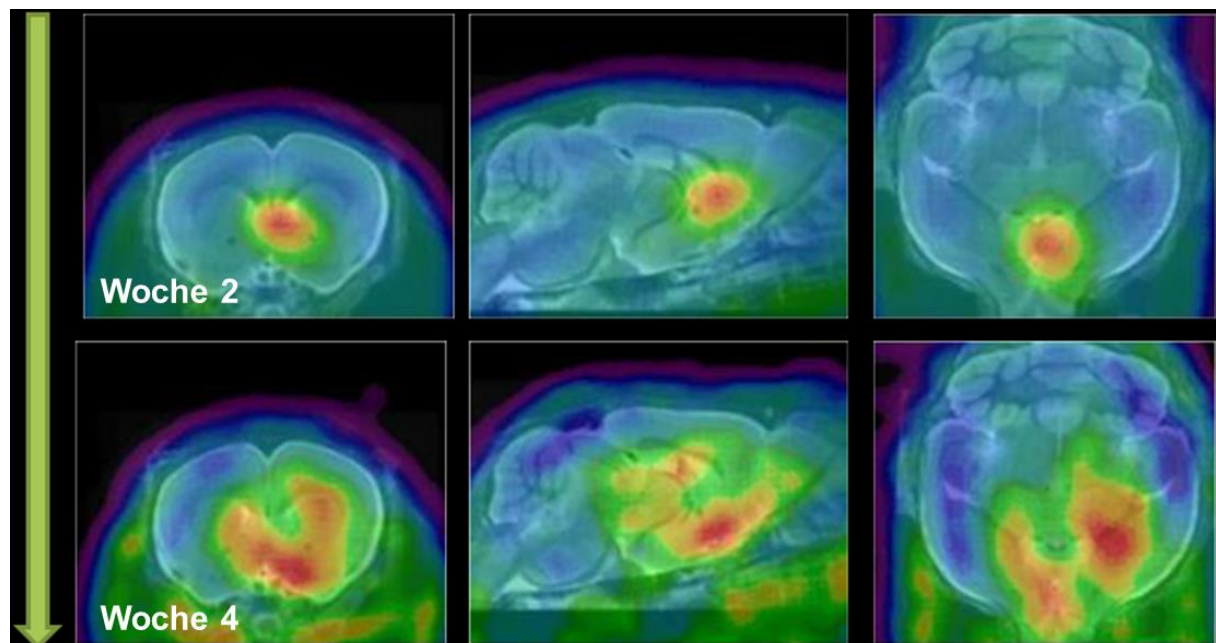
Nicht-volumetrische Darstellung des Tumorwachstums

4.2.1 Qualitative, visuelle Beurteilung

Sowohl in ^{18}F -FET PET, ^{18}F -FET Autoradiographie als auch HE-Histologie lässt sich das Tumorwachstum über die Zeit grundsätzlich darstellen. Autoradiographie und Histologie eignen sich hierbei ausschließlich für Gruppenvergleiche, da die Anwendung dieser Modalitäten entweder die Euthanasie der Maus oder aber eine tumorchirurgische Resektion oder Biopsie voraussetzt. Beiden Optionen sind nicht mit einer longitudinalen Beobachtung des Tumorwachstums einer einzelnen Maus vereinbar. Die ^{18}F -FET PET hingegen erlaubt ein intraindividuelles *in vivo* Imaging zu verschiedenen Zeitpunkten und eignet sich damit bei seriellen Scanplan für die nicht-invasive Beobachtung des Tumorwachstums am lebenden Tier.

PET

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation konnten $N = 61$ ^{18}F -FET PET-Scans in Mäusen generiert werden. Mit Ausnahme eines ^{18}F -FET-negativen Tumors konnten sämtliche histologisch gesicherten Tumoren in der ^{18}F -FET PET rein visuell klar vom gesunden Hirngewebe abgegrenzt werden, sofern den Tumoren mindestens eine Woche nach Inokulation Zeit zum Anwachsen gegeben wurde (zu frühen Zeitpunkten in der ersten Woche nach Inokulation waren die Tumoren nicht zuverlässig in allen ^{18}F -FET PET-Scans abgrenzbar). Gleichermäßen konnte die Entwicklung der Größe und Signalintensität der Tumoren über die Zeit in den longitudinalen PET-Scans visuell verfolgt werden. Abbildung 4.2.1 gibt Eindrücke über das Tumorwachstum zwischen zwei Zeitpunkten im Abstand von zwei Wochen. Sowohl die Tumorausdehnung als auch die Signalintensität nehmen über die Zeit zu. Die Abgrenzung zum gesunden Hirn ist scharf und kontrastreich. Abbildung 4.2.2 zeigt beispielhaft das Tumorwachstum in einem longitudinalen Setup über den Zeitraum von vier Wochen. Auch hier nehmen sowohl Tumorausdehnung als auch Signalintensität über die Zeit zu. Die Abgrenzung zum gesunden Hirn ist scharf und kontrastreich. In den Kontrollmäusen konnte keine signifikante Mehranreicherung von ^{18}F -FET auf der Injektionsseite im Vergleich zur nicht-manipulierten Gegenseite festgestellt werden (siehe Abbildung 4.2.3).

Beispiel 1:**Beispiel 2:****Abbildung 4.2.1 Monitoring von Tumorwachstum mittels ^{18}F -FET PET 1**

Das Gliomwachstum in der Maus zwischen Woche 2 (**jeweils obere Reihe**) und Woche 4 (**jeweils untere Reihe**) nach Tumorzellinokulation ist mittels ^{18}F -FET PET zuverlässig darstellbar. Dreidimensionale Darstellung der ^{18}F -FET PET, SUV/BG ist auf ein MRT-Template koregistriert.

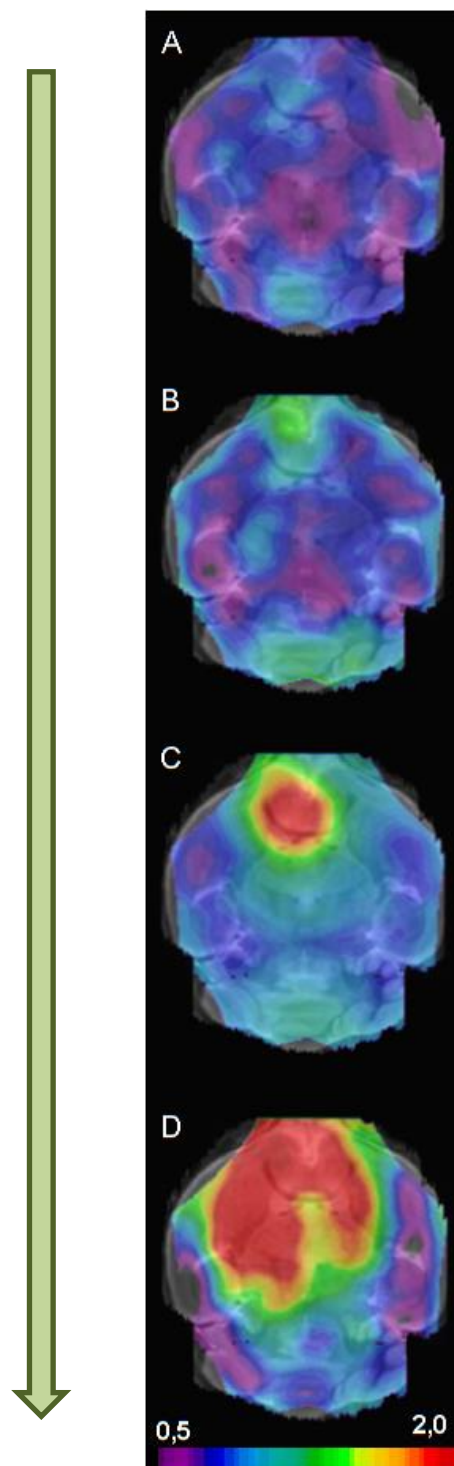


Abbildung 4.2.2 Monitoring von Tumorwachstum mittels ^{18}F -FET PET 2

Longitudinales nicht-invasives *in vivo* Imaging einer Tumormaus über den Zeitraum von vier Wochen. **A** Woche 2, **B** Woche 3, **C** Woche 4, **D** Woche 5 nach Inokulation von 50 000 GL261-Zellen. SUV/BG ist auf ein MRT-Template koregistriert.

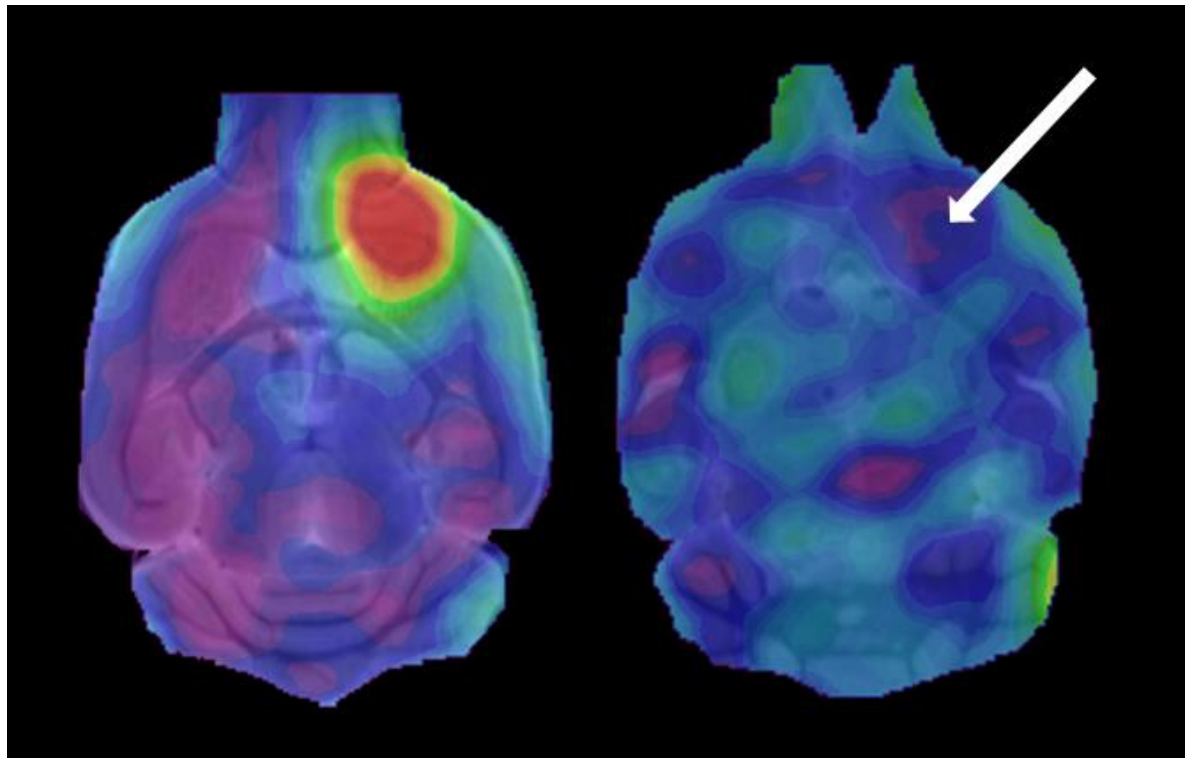
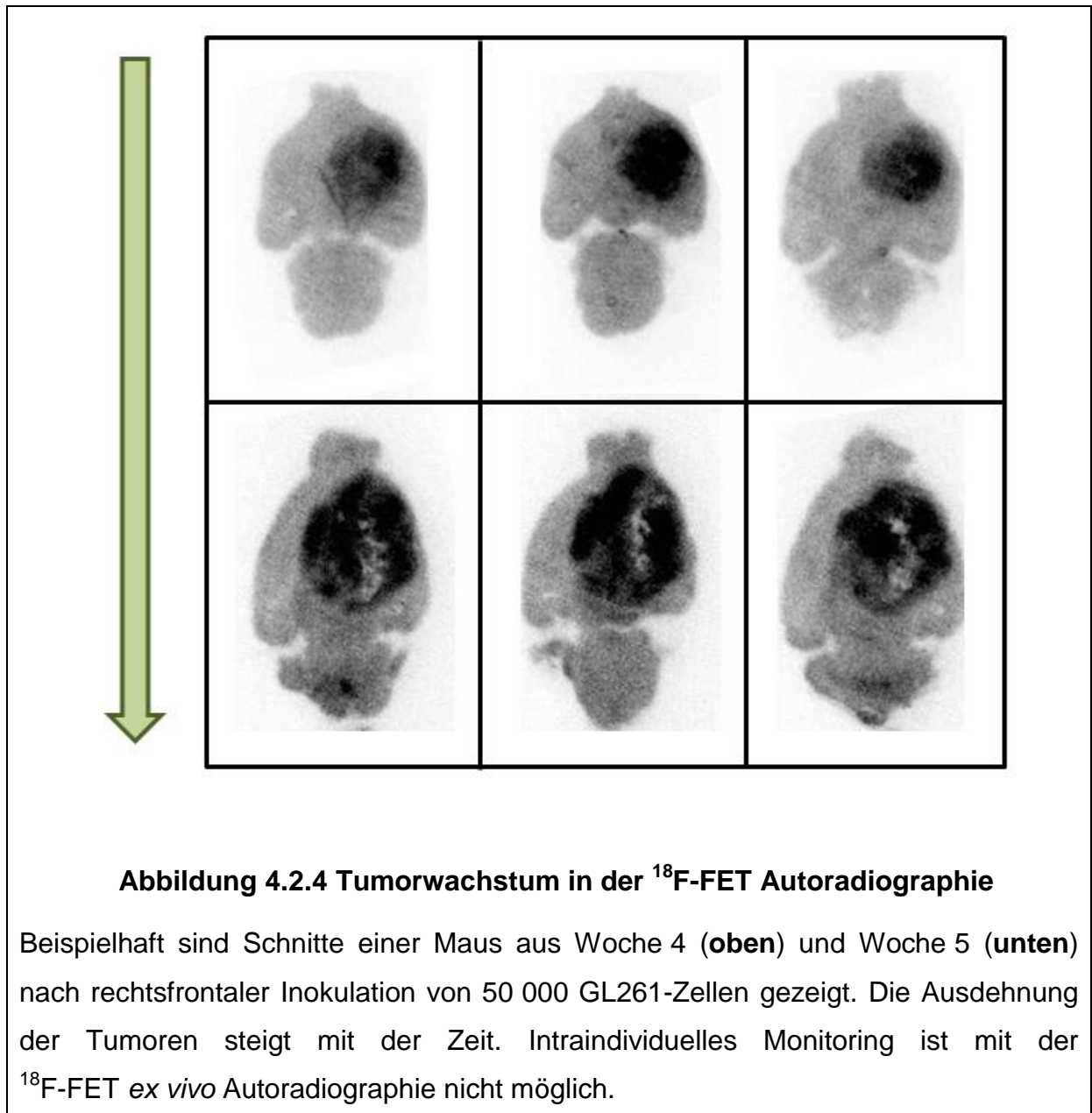


Abbildung 4.2.3 ^{18}F -FET-Aufnahme in Tumor- und Kontrollmaus

Axiale ^{18}F -FET PET, zwei Wochen nach Inokulation, SUV/BG ist auf ein MRT-Template koregistriert. In der Tumormaus (**links**) imponiert rechtsfrontal eine erhöhte ^{18}F -FET-Aufnahme im stereotaktischen Zielgebiet der Inokulation. Eine scharfe Abgrenzung des Tumors zum gesunden Hirngewebe ist möglich. In der Kontrollmaus (**rechts**) ist im selben zeitlichen Abstand zur NaCl-Scheininokulation keine tumorsuspekte Mehraufnahme von ^{18}F -FET zu verzeichnen (**weißer Pfeil**).

Autoradiographie

Auch in der ^{18}F -FET *ex vivo* Autoradiographie lässt sich das Tumorwachstum über eine rein qualitative Beurteilung feststellen (siehe Abbildung 4.2.4). Analog zur ^{18}F -FET PET zeigen Kontrollmäuse keine tumorsuspekten Anreicherungen in der ^{18}F -FET *ex vivo* Autoradiographie.



Histologie

Von den in der vorliegenden Dissertation genutzten Modalitäten zur Wachstumsbeurteilung ist die histologische Aufarbeitung des Hirntumors die etablierteste und hat vor diesem Hintergrund als Kontrolle von PET und Autoradiographie gedient. Histologisch tumorfreie Mäuse haben sowohl in der ^{18}F -FET PET als auch in der ^{18}F -FET Autoradiographie keine rechtsfrontale ^{18}F -FET-Mehranreicherung gezeigt. Hiervon betroffen sind zum einen die Kontrollmäuse (siehe Abbildung 4.2.5), zum anderen jedoch auch Tumormäuse mit ausbleibendem Anwachsen eines Tumors (trotz Tumorzellinokulation). Letzte wurden

deshalb nach histologischer Sicherung des ausgebliebenen Tumorwachstums von den weiteren Auswertungen ausgeschlossen. Für die quantitativen PET-Analysen im longitudinalen Setup waren hiervon $n = 2$ Mäuse betroffen.

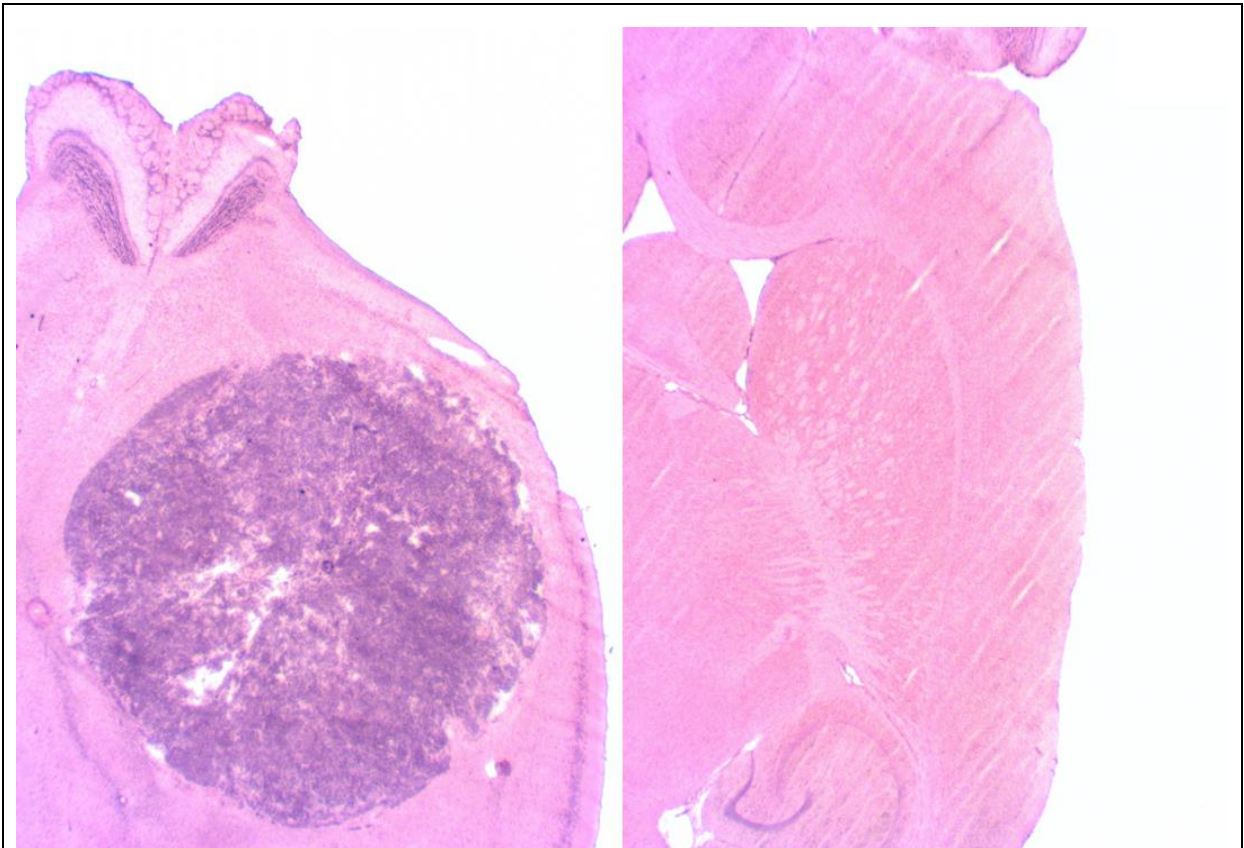


Abbildung 4.2.5 Histologischer Vergleich der Inokulationsstellen in Tumormaus und Kontrollmaus in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Links ist das rechtsfrontale Hirn einer Tumormaus auf Höhe des stereotaktischen Zielgebietes abgebildet (3 Wochen nach Inokulation von 50 000 GL261-Zellen). Es ist deutlich ein rundlicher Tumor mit zentralen Aufhellungen, a. e. Prozessierungsschäden entsprechend, zu erkennen. **Rechts** ist das rechtsfrontale Hirn in Höhe der Inokulationstiefe nun einer Kontrollmaus gegenübergestellt (selber zeitlicher Abstand zur Scheininokulation). In der Kontrollmaus sind keine relevanten Gewebealterationen oder tumorsuspekten Areale erkennbar.

4.2.2 Quantitative PET-Beurteilung

PET-Standardparameter – uniforme Tumor-VOI

Für diesen Teilversuch wurden $n = 37$ ^{18}F -FET PET-Scans herangezogen, davon $n = 15$ in Woche 2 (davon $n = 3$ shams); $n = 10$ in Woche 3 (davon $n = 1$ sham); $n = 6$ in Woche 4 (davon $n = 1$ sham) und $n = 6$ in Woche 5 (davon $n = 1$ sham) nach der Inokulation. Im Einklang mit den Ergebnissen der qualitativen Beurteilung der Tumoren in der Gesamtkohorte (siehe Punkt 4.2.1) zeigten sämtliche Tumormäuse einen ^{18}F -FET-positiven Tumor in der PET in Woche 3 ($n = 9/9$), Woche 4 ($n = 5/5$) und Woche 5 ($n = 5/5$) nach der Inokulation, während nur ein Viertel der in der zweiten postoperativen Woche gescannten Mäuse ($n = 03/12$) einen ^{18}F -FET-positiven Tumor in der PET zeigten.

Zur Definition des Zielbereichs wurde zunächst eine 88 mm^3 große VOI entsprechend der stereotaktischen Koordinaten um den Tumor herum in die rechte Hemisphäre gelegt und diese eine VOI auf alle Scans angewandt (uniforme Tumor-VOI). Die uniforme Tumor-VOI ist in Abbildung 4.2.6 dargestellt.

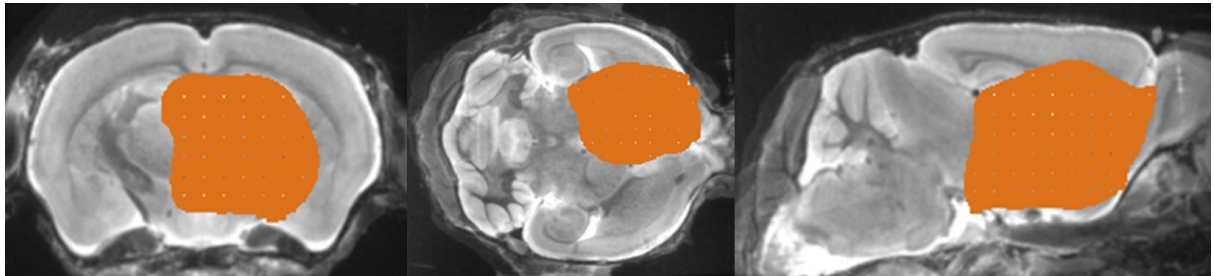


Abbildung 4.2.6 Uniforme Tumor-VOI

Dreidimensionale Ansicht der uniformen – d. h. für alle Scans in Form, Volumen und Lokalisation identischen – Tumor-VOI mit einer Größe von 88 mm^3 . Die VOI wurde entsprechend der stereotaktischen Koordinaten der Tumorzellinokulation im rechtsfrontalen Hirn ausgerichtet. Etwaiger Spill-In des Knochens wurde ausgeschlossen. [108]

Diese vordefinierte uniforme Tumor-VOI wurde für die VOI-basierte quantitative Analyse der PET-Daten herangezogen. Hierbei zeigt der TBR_{mean} der Tumormäuse

einen nahezu kontinuierlichen Anstieg über die Zeit: $1,22 \pm 0,14$ in Woche 2; $1,45 \pm 0,41$ ($p = n. s.$) in Woche 3; $1,40 \pm 0,28$ ($p = n. s.$) in Woche 4 und $1,78 \pm 0,29$ ($p < 0,005$) in Woche 5 nach Tumorzellinokulation. Verglichen mit der ^{18}F -FET-Aufnahme der Kontrollgruppe ($1,15 \pm 0,04$) betrug der Anstieg des mittleren TBR_{mean} in der Tumorgruppe +6 % in Woche 2, +26 % in Woche 3, +22 % in Woche 4 und +55 % in Woche 5 nach Tumorzellinjektion (siehe Abbildung 4.2.7 A).

Der TBR_{max} stieg in den Tumormäusen mit der Zeit kontinuierlich an: $1,92 \pm 0,57$ in Woche 2; $2,11 \pm 0,87$ ($p = n. s.$) in Woche 3; $2,62 \pm 0,76$ ($p = n. s.$) in Woche 4 und $3,18 \pm 0,80$ ($p < 0,05$) in Woche 5 nach Tumorzellinokulation. Verglichen mit der Kontrollgruppe ($1,79 \pm 0,26$) betrug der Anstieg des mittleren TBR_{max} in der Tumorgruppe +8 % in Woche 2, +34 % in Woche 3, +46 % in Woche 4 und +77 % in Woche 5 nach Tumorzellinjektion (siehe Abbildung 4.2.7 B).

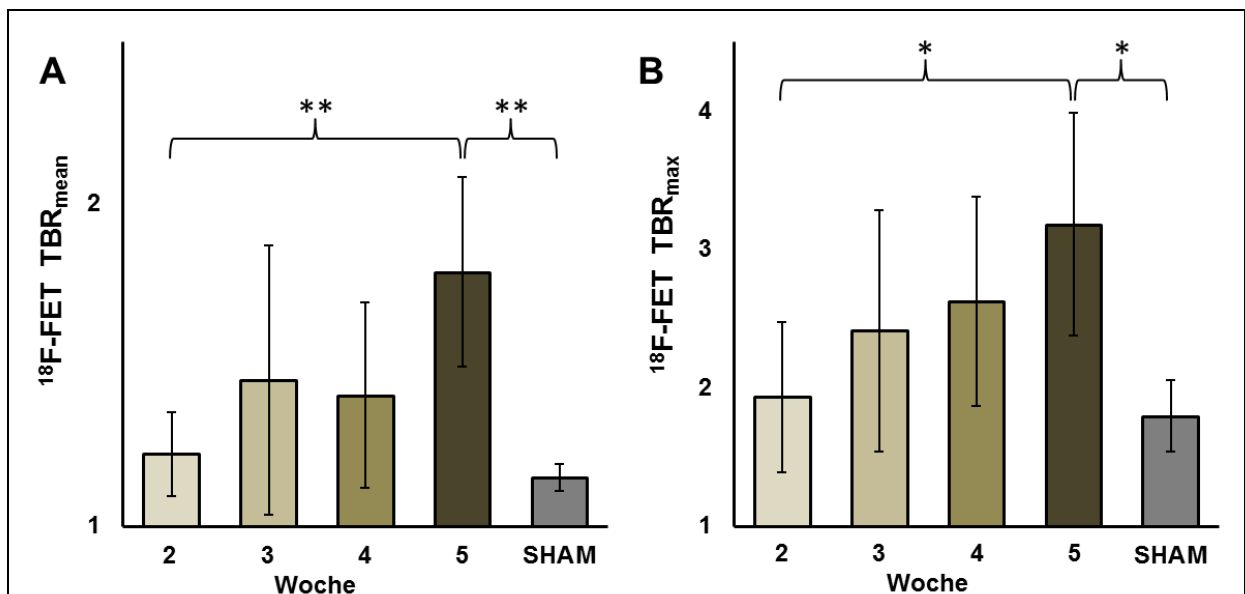


Abbildung 4.2.7 ^{18}F -FET-Aufnahme im zeitlichen Verlauf in Tumor- und in Kontrollmäusen unter Anwendung der uniformen Tumor-VOI

Die Tumormäuse sind entsprechend des zeitlichen Abstandes zur Inokulation in vier Gruppen unterteilt (Woche 2-5). Im jeweils rechten Balken sind die Kontrollmäuse zusammengefasst, unabhängig des zeitlichen Abstands zur NaCl-Injektion ($n = 06-14$ pro Gruppe). **A.** ^{18}F -FET TBR_{mean} \pm SD **B.** ^{18}F -FET TBR_{max} \pm SD

Der Anstieg der tumoralen ^{18}F -FET-Aufnahme zwischen Woche 2 und Woche 5 nach Tumorzellinokulation sowie der Unterschied der ^{18}F -FET-Aufnahme in späten Tumoren im Vergleich zu den tumorfreen Kontrollmäusen sind statistisch signifikant.

Ein relevanter spill-in Effekt von Knochen in die Tumor-VOI, das heißt ein Überlagerungssignal von ^{18}F -aufnehmendem Knochen, konnte in drei von 37 Scans festgestellt werden. In allen Fällen handelte es sich um Schädelbasisknochen und das Knochensignal beeinträchtigte den TBR_{max} in der uniformen Tumor-VOI, sodass eine manuelle Maskierung des Störsignals vonnöten war. Diese wurde in PMOD durch Exklusion einzelner Voxel aus der Tumor-VOI umgesetzt. Der tatsächliche TBR_{max} des Tumors ließ sich in allen drei Fällen klar vom spill-in Effekt des Knochens unterscheiden, da dieser gut erkennbar ausnahmslos am äußersten Rand der VOI im Bereich der Schädelbasis auftrat und mit der übrigen Schädelbasis gut vereinbare Aufnahmewerte zeigte.

Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC)

Eine Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC) wurde durchgeführt in Anlehnung an die Vorarbeiten zu neurodegenerativen Mausmodellen von Matthias Brendel aus der eigenen Arbeitsgruppe [111], und die Methodik wurde zusammen an das in der vorliegenden Dissertation betrachtete Glioblastom-Mausmodell angepasst. Es wurde eine VOI-basierte, in PMOD implementierte Analyseverfahren vollzogen [112, 113] mit einer Halbwertsbreite (FWHM) von $1,20 \text{ mm} \times 1,20 \text{ mm} \times 1,72 \text{ mm}$. Die FWHM wurde über Stabphantom-Messungen im Kleintier-PET-Scanner für die Versuchsbedingungen der Experimente aus der vorliegenden Dissertation validiert. Eine VOI-Maske bestehend aus acht Subvolumina wurde für jede Maus einzeln erstellt ($n = 8$). Im Einzelnen bestand die VOI-Maske aus der individuellen Tumor-VOI, einer den Rest des Hirns umfassenden VOI, einer die Harder'schen Drüsen umfassenden VOI, einer frontal gelegenen extrazerebralen VOI, einer superioren extrazerebralen VOI, einer basal gelegenen extrazerebralen VOI, einer spinalen VOI, und einer Hintergrund-VOI, siehe Abbildung 4.2.8).

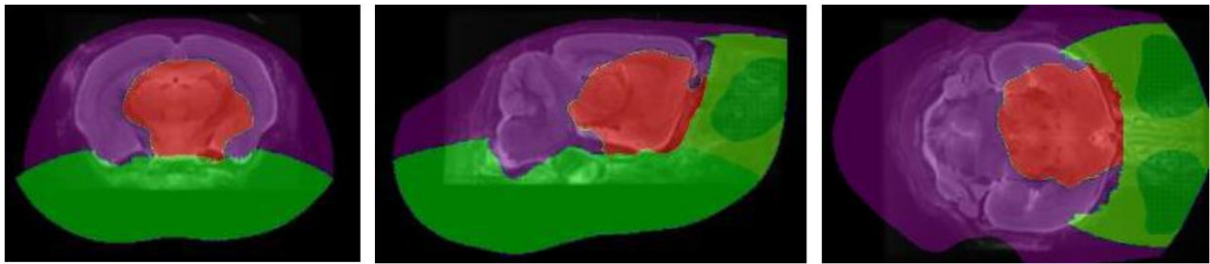


Abbildung 4.2.8 VOI-Maske für die Partialvolumeneffekt-Korrektur

Dreidimensionaler Eindruck des für die PVEC in der ^{18}F -FET PET verwendeten Sets an acht VOIs. Als Tumor-VOI (**rot**) wurde für die PVEC die in Punkt 4.4 eingeführte und dort ausführlich erläuterte *individuelle* Tumor-VOI verwendet.

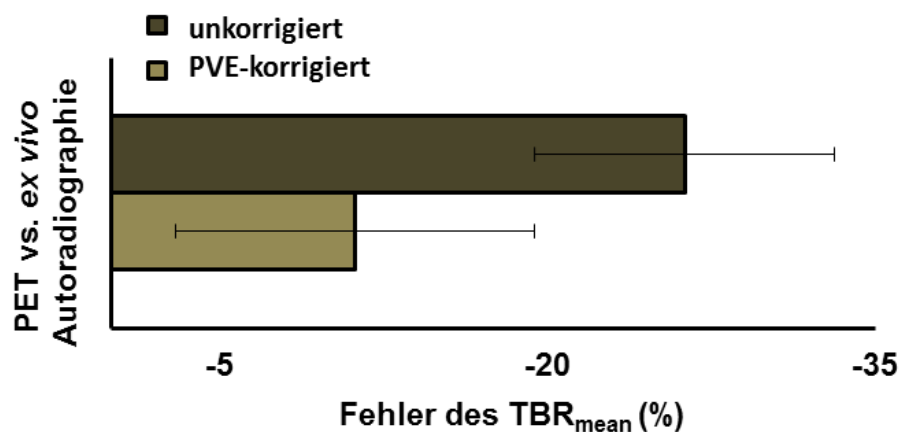


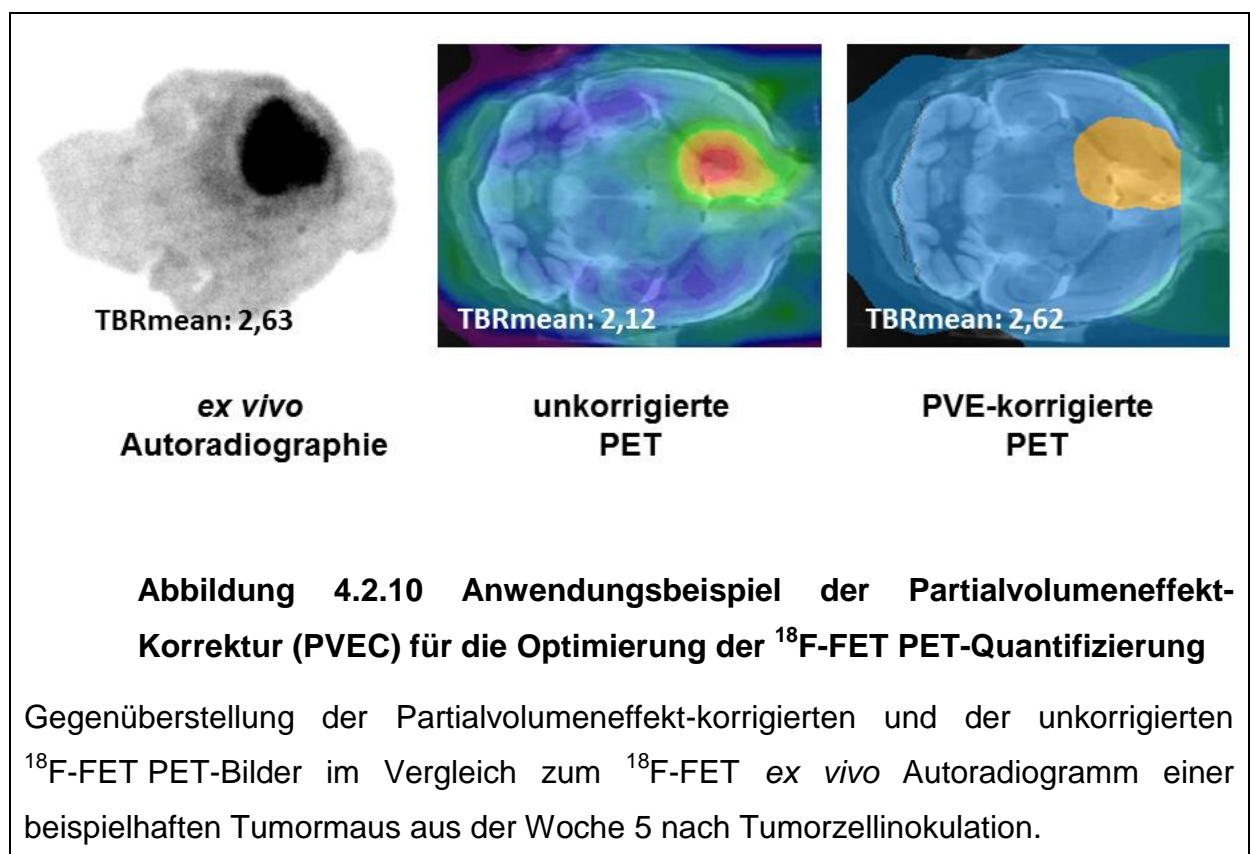
Abbildung 4.2.9 Effekt der Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC) auf die Quantifizierung der tumoralen ^{18}F -FET-Aufnahme in der PET

Der Fehler der tumoralen ^{18}F -FET PET-Quantifizierung im Vergleich zur ^{18}F -FET ex vivo Autoradiographie sinkt deutlich mit Anwendung der PVEC: Ohne Durchführung einer PVEC liegt der Fehler bei -26 %; unter Zuhilfenahme der in der vorliegenden Dissertation erarbeiteten PVEC liegt der Fehler bei -11 %.

Über die Integration von Punktantworten einzelner Gewebebereiche wurden regionale Punktspreizfunktionen berechnet und letztendlich Gewichtungsfaktoren für den Beitrag der acht verschiedenen Gewebebereiche entsprechend der acht VOIs erzeugt. Koeffizienten einer geometrischen Transfermatrix (GTM) wurden errechnet und die initialen PET-Daten mit der invertierten GTM multipliziert. Es resultieren für die definierten VOIs Partialvolumeneffekt-korrigierte radioaktive Konzentrationen. In die Partialvolumeneffekt-korrigierten Bilder sind somit die per VOI-Maske vordefinierten Areale eingeschlossen worden und diese Areale wurden mit den VOI-basierten Ergebnissen der unkorrigierten PET-Daten verglichen. Schlussendlich wurden die VOIs für die Berechnung Partialvolumeneffekt-korrigierter TBR_{mean}-Werte genutzt.

Der Fehler des TBR_{mean} in den unkorrigierten PET-Daten liegt im Vergleich zur hochauflösenden *ex vivo* Autoradiographie bei –26 %. Mit Anwendung der PVEC konnte der Fehler des TBR_{mean} in den PET-Daten im Vergleich zur *ex vivo* Autoradiographie auf weniger als die Hälfte reduziert werden (–11 %, siehe Abbildung 4.2.9).

Abbildung 4.2.10 zeigt ein Beispiel für die Anwendung der PVEC.



4.3 Ergebnisse:

Translation PET-volumetrischer Verfahren von Mensch zu Maus

4.3.1 Prinzip der PET-Volumetrie aus der klinischen Routine

Für die Definition des biologischen Tumorumfanges (BTV) von Gliomen in der ^{18}F -FET PET ist es in der *klinischen* Neuroonkologie gängige Praxis, ein gesetztes Vielfaches der ^{18}F -FET-Hintergrund-Aktivität im gesunden Hirn als Grenzwert für eine Grenzwert-basierte tumorale VOI-Definition zu nutzen. Während sich in der Literatur hierfür zwar verschiedene Grenzwerte finden, scheint sich in mehreren führenden neuroonkologischen PET-Zentren mittlerweile 1,6 als Faktor für den Grenzwert durchgesetzt zu haben. [114, 115] Um den verschiedenen in der Literatur beschriebenen Grenzwerten gerecht zu werden, wurde für die Translation der Methode aus der Klinik in die Präklinik in den Experimenten der vorliegenden Dissertation eine Reihe an Grenzwerten ausgewählt, welche die gängigen klinischen Grenzwerte – insbesondere auch den Faktor 1,6 – mit einschließt (SUV/BG: $\geq 1,4$; $\geq 1,6$; $\geq 1,8$; $\geq 2,0$). Mit jedem dieser Grenzwerte einzeln wurde nun Grenzwert-basiert in Tumormäusen eine Tumor-VOI definiert: Voxel mit höheren Werten als der entsprechende Grenzwert wurden in die Tumor-VOI aufgenommen. Pro Tumor und Zeitpunkt wurden somit vier unterschiedliche BTVs entsprechend der vier Grenzwerte erstellt. Zur Überprüfung der Validität dieser klinischen Methode der BTV-Definition im präklinischen Setting des Glioblastom-Mausmodells wurde jedes dieser vier standardisiert in der PET erhobenen BTVs mit dem korrespondierenden histologischen Tumorumfang als Referenz verglichen.

4.3.2 Anwendung der klinischen Methode im Mausmodell

Abbildung 4.3.1 zeigt die Ergebnisse der semi-automatisierten BTV-Analyse mittels fester Grenzwerte (SUV/BG: $\geq 1,4$; $\geq 1,6$; $\geq 1,8$; $\geq 2,0$) für acht Mäuse mit ^{18}F -FET-positivem Tumor in der PET. Dargestellt ist der Vergleich der Grenzwert-basierten BTVs mit dem jeweils zugehörigen histologischen Tumorumfang als Referenz. Abgesehen von zwei Annäherungen mit einem akzeptablen Fehler von $< 5\%$, sind alle BTVs deutlich diskrepanz zum histologischen Tumorumfang. Mit 1,4 als Grenzwert ergab in nur einer Maus das BTV eine akzeptable Annäherung des

histologischen Tumorstadiums (Abweichung von -5%), während in drei Fällen die histologischen Tumorstadien deutlich unterschätzt und in vier weiteren Fällen die histologischen Tumorstadien deutlich überschätzt wurden, zweimal davon besonders deutlich (Abweichung von $+89\%$ und $+95\%$).

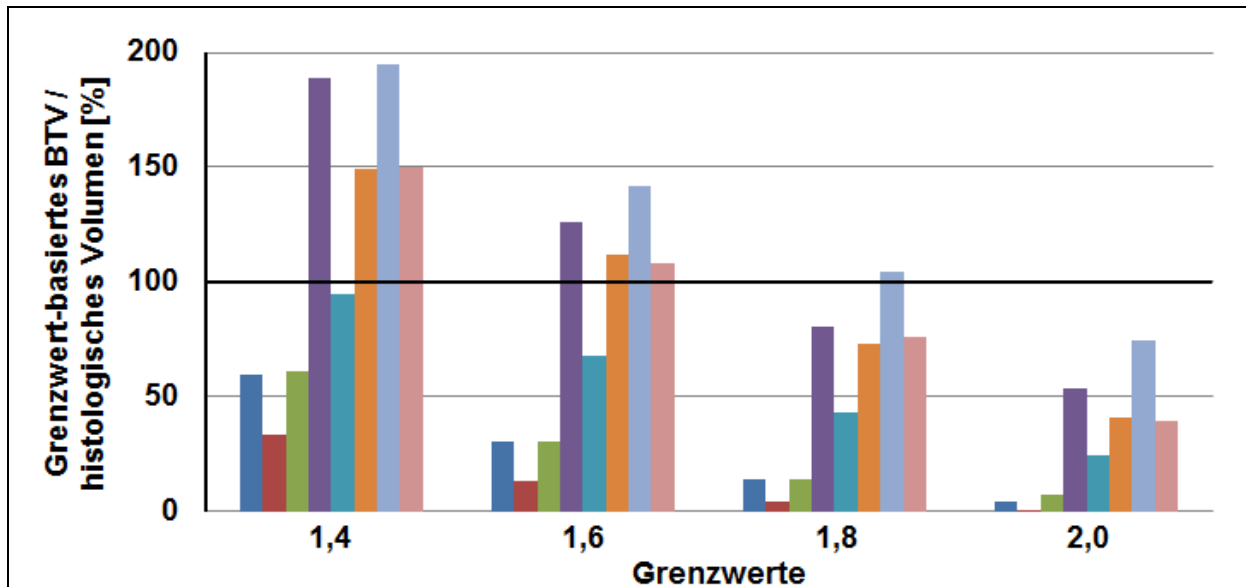


Abbildung 4.3.1 Grenzwert-basierte biologische Tumorstadien (BTV) in der ^{18}F -FET PET im Vergleich zum Tumorstadium in der Histologie 1

Keiner der getesteten Grenzwerte ($\text{SUV/BG} \geq 1,4$; $\geq 1,6$; $\geq 1,8$; $\geq 2,0$) eignet sich für eine im Vergleich zur HE-Histologie valide Definition des biologischen Tumorstadiums in sämtlichen Mäusen. So liegt das über vordefinierte Grenzwerte errechnete BTV in einigen Mäusen bei knapp dem Doppelten, in anderen Fällen bei weniger als einem Zehntel des histologischen Tumorstadiums. Obwohl die BTV-Definition für einzelne Mäuse valide ist (in der Abbildung ist dies an der Nähe des Balkens zur 100 %-Linie zu erkennen), ist kein Grenzwert für sämtliche Mäuse allgemeingültig (erkennbar an der ausgeprägten Streuung um die 100 %-Linie).

Mit 1,6 als Grenzwert wurde in einem Fall das histologische Tumorstadium mit $+8\%$ überschätzt und drei weitere BTVs haben das histologische Tumorstadium noch deutlicher überschätzt, während in zwei anderen Fällen das histologische Tumorstadium deutlich unterschätzt wurde, davon insbesondere in einem Fall (Abweichung von -87%). Mit 1,8 als Grenzwert wurden mit Ausnahme einer gerade

noch akzeptablen Abweichung von +4 % sämtliche histologischen Tumorumfänge deutlich unterschätzt, drei BTVs lagen sogar sehr deutlich unter dem histologischen Tumorumfang (Abweichung von –86 %, –96 % und –86 %). Mit 2,0 als Grenzwert wurden letztlich sämtliche histologischen Tumorumfänge sehr deutlich von den BTVs unterschätzt und in keinem einzigen Fall hat sich das BTV als akzeptable Annäherung des histologischen Tumorumfanges erwiesen. Zusammenfassend scheint keiner der vordefinierten Grenzwerte ($\text{SUV/BG} \geq 1,4$; $\geq 1,6$; $\geq 1,8$; $\geq 2,0$) als allgemeingültiger Wert für die BTV-Definition geeignet zu sein, auch wenn die hier ausgewählten Grenzwerte in Einzelfällen eine angemessene Annäherung des BTV an das histologische Tumorumfang ermöglichen. Die Limitiertheit der vordefinierten Grenzwerte wird verdeutlicht durch einen sehr hohen Root Mean Square Error (RMSE, Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme) von um die 200 %, siehe Abbildung 4.3.2.

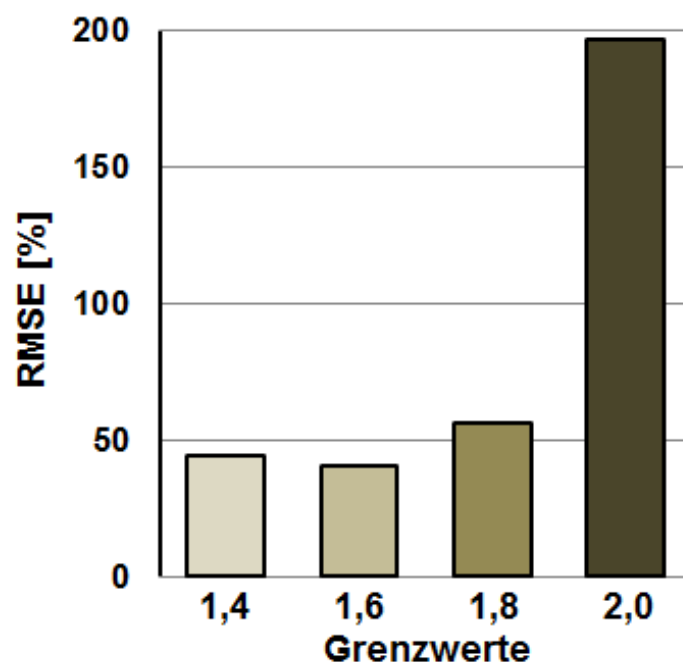


Abbildung 4.3.2 Fehler der BTV-Definition über vordefinierte Grenzwerte

Der Root Mean Square Error (RMSE, Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme) der BTV-Definition über vordefinierte Grenzwerte in der ^{18}F -FET PET im Vergleich zum histologischen Tumorumfang liegt bei bis zu knapp 200 %.

4.4 Ergebnisse:

Individualisierte PET-Volumetrie im Mausmodell

4.4.1 Entwicklung einer individualisierten Methode der BTV-Definition

Als zusätzliche Methode wurde für jede Maus einzeln ermittelt, welcher Grenzwert individuell nötig ist, um ein genau dem histologischen Tumorumfang entsprechendes BTV in der PET zu erzielen. Hierfür wurde in jeder Maus einzeln eine dreidimensionale VOI-basierte Grenzwert-Annäherung vorgenommen und soweit optimiert, bis das BTV und das histologische Volumen annähernd kongruent waren. Der Grenzwert mit der besten Übereinstimmung beider Volumina wurde als "individueller Grenzwert" festgelegt. Das mittels individuellen Grenzwerts bestimmte BTV wurde "individuelle Tumor-VOI" genannt. Diese im Vergleich zur Histologie "optimale" individuelle Tumor-VOI wurde auch in die VOI-Maske für die PVEC eingeschlossen (siehe hierzu Punkt 4.2.2 und Abbildung 4.2.8). Die Form der individuellen Tumor-VOI wurde anschließend mit der Form des Tumors in der HE-Histologie verglichen, um die Gegebenheit einer tatsächlichen geometrischen (und nicht rein numerischen) Übereinstimmung des PET-Volumens und des histologischen Volumens zu verifizieren. Die auf diese Weise erhobenen individuellen Grenzwerte zeigen zwischen den Mäusen eine hohe Variabilität (Variationsbreite 1,27-1,83), weshalb kein einzelner, für sämtliche Mäuse allgemeingültiger Grenzwert zur BTV-Definition identifiziert werden konnte. Der individuelle Grenzwert korreliert nicht mit dem histologischen Tumorumfang ($p = -0,07$, $p = \text{n. s.}$), zeigt jedoch eine eher starke positive Korrelation mit TBR_{mean} ($p = 0,81$; $p < 0,05$) und insbesondere eine sehr starke (nahezu perfekte) positive Korrelation mit TBR_{max} ($p = 0,97$, $p < 0,001$, siehe Abbildung 4.4.1). Vor dem Hintergrund möglicher Partialvolumeneffekte konnte eine starke Abhängigkeit der PET-Parameter vom histologischen Tumorumfang ausgeschlossen werden. So ergab sich weder für TBR_{mean} ($p = 0,43$; $p = \text{n. s.}$) noch für TBR_{max} ($p = 0,11$; $p = \text{n. s.}$) eine signifikante Korrelation mit dem histologischen Tumorumfang. Die Grenzen der individuellen Tumor-VOIs waren auch bezogen auf die geometrische Form nahezu kongruent zu den histologischen Tumorgrenzen (siehe Abbildung 4.4.2).

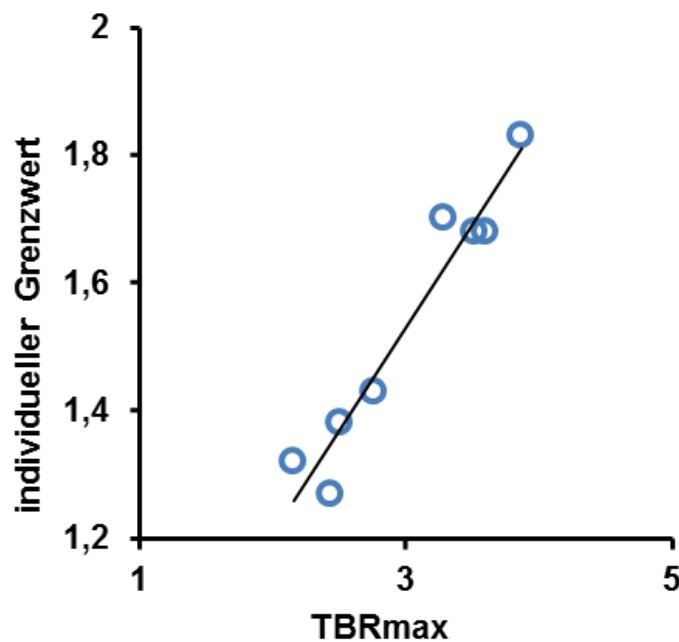


Abbildung 4.4.1 Korrelation des individuellen Grenzwertes mit TBR_{max}

Der individuelle Grenzwert korreliert unerwartet deutlich mit TBR_{max} ($\rho = 0,97$, $p < 0,001$). Anhand dieser nahezu „perfekten“ positiven Korrelation konnte die Methode der individualisierten, TBR_{max}-basierten BTV-Definition entwickelt werden.

Die lineare Beziehung zwischen TBR_{max} (x) aus der uniformen Tumor-VOI und dem individuellen Grenzwert (y) kann in Form einer Gleichung (Eq 1) ausgedrückt werden:

Eq 1: $y = 0.3215x + 0.5654$

Anhand dieser Gleichung können nun TBR_{max}-basiert individuelle Grenzwerte errechnet werden, ohne dass das korrespondierende Tumervolumen in der HE-Histologie vorliegen muss. Es muss schlichtweg der TBR_{max} erhoben werden (man kann hierfür die uniforme Tumor-VOI verwenden) und anschließend in die Gleichung eingesetzt werden. Als Ergebnis (y) erhält man den individuellen Grenzwert und kann mit diesem wiederum das individuelle BTV bestimmen.

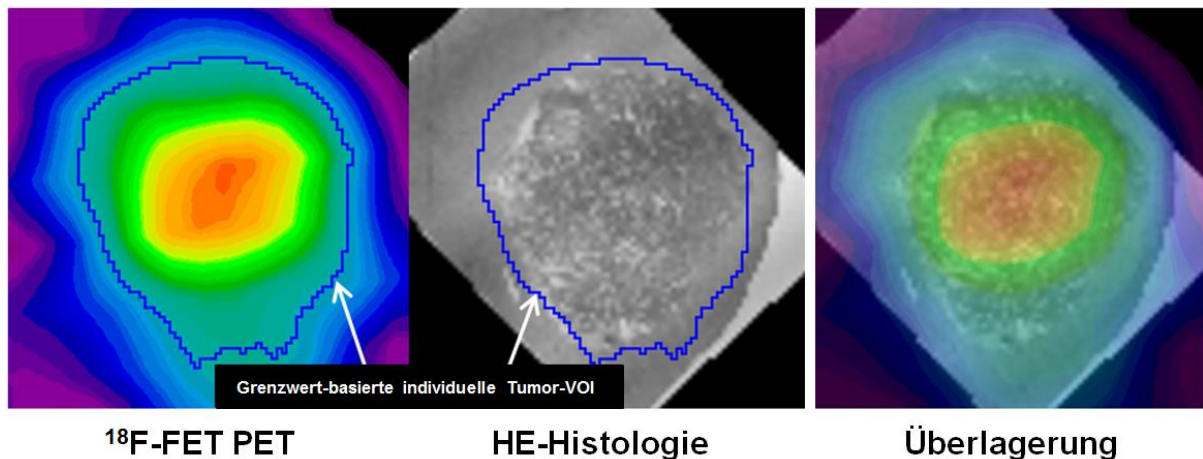


Abbildung 4.4.2 Formabgleich der individuellen Tumor-VOI in ^{18}F -FET PET und HE-Histologie

Die in der ^{18}F -FET PET mithilfe TBR_{max} -basierter Grenzwerte definierten Tumor-VOIs sind mit den Tumoren in der HE-Histologie nahezu deckungsgleich.

4.4.2 Anwendung der neuentwickelten Methode

Die Methode der individuellen BTV-Bestimmung mittels TBR_{max} -basierten Grenzwerts wurde in der Folge für die Berechnung von individuellen BTVs in sämtlichen Mäusen mit ^{18}F -FET-positivem Tumor in der PET angewandt. Es wurden sowohl die visuelle Erscheinung der entstandenen individuellen Tumor-VOIs (Abbildung 4.4.2) als auch der longitudinale Verlauf auf Plausibilität hin überprüft. Die Entwicklung des durchschnittlichen BTV über die Zeit ist für den gesamten PET-Datensatz in Abbildung 4.4.3 und in Abbildung 4.4.4 aufgeführt. Mit der neuentwickelten Methode wurden höhere Werte für die tumorale ^{18}F -FET-Aufnahme erzielt: So lag TBR_{mean} um 13 % (± 12 %) höher als bei der Erhebung mittels uniformer Tumor-VOI. Der mittlere TBR_{mean} für die Tumormäuse lag mit der individuellen Tumor-VOI nun bei $1,28 \pm 0,32$ in Woche 2, $1,62 \pm 0,52$ ($p = \text{n. s.}$) in Woche 3, $1,66 \pm 0,41$ ($p = \text{n. s.}$) in Woche 4 und $1,96 \pm 0,34$ ($p < 0,01$) in Woche 5 nach Tumorzellinokulation. TBR_{max} blieb mit den individuellen Tumor-VOIs unverändert im Vergleich zu der uniformen Tumor-VOI. Die geometrische Form und die Grenzen der individuellen Tumor-VOIs waren in sämtlichen Mäusen vereinbar mit der tatsächlichen Tumorlokalisation und -ausdehnung.

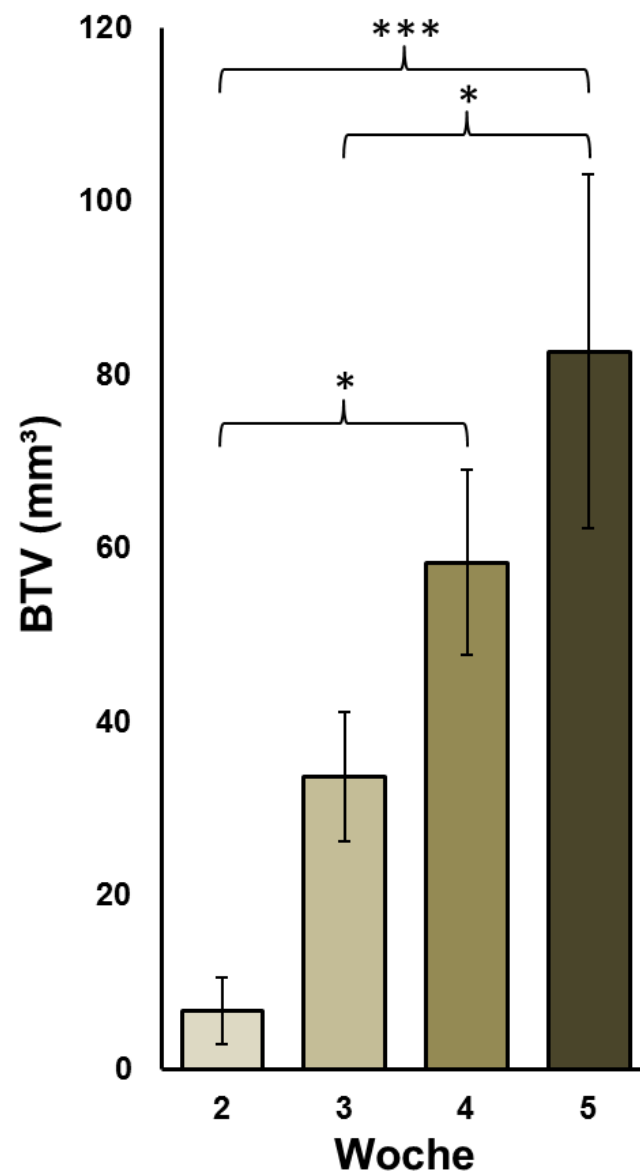


Abbildung 4.4.3 Entwicklung des individuellen BTV über die Zeit 1

Das durchschnittliche individuelle BTV des gesamten PET-Datensatzes ist mit der Zeit ansteigend: 6,7 mm³ in Woche 2 (Variationsbreite 0-35,1 mm³), 33,7 mm³ in Woche 3 (Variationsbreite 7,7-57,5 mm³, p = 0,12), 58,3 mm³ in Woche 4 (Variationsbreite 24,2-86,3 mm³, p < 0,005) und 82,6 mm³ in Woche 5 (Variationsbreite 38,2-145,7 mm³, p < 0,001) nach Inokulation von 50 000 GL261-Zellen.

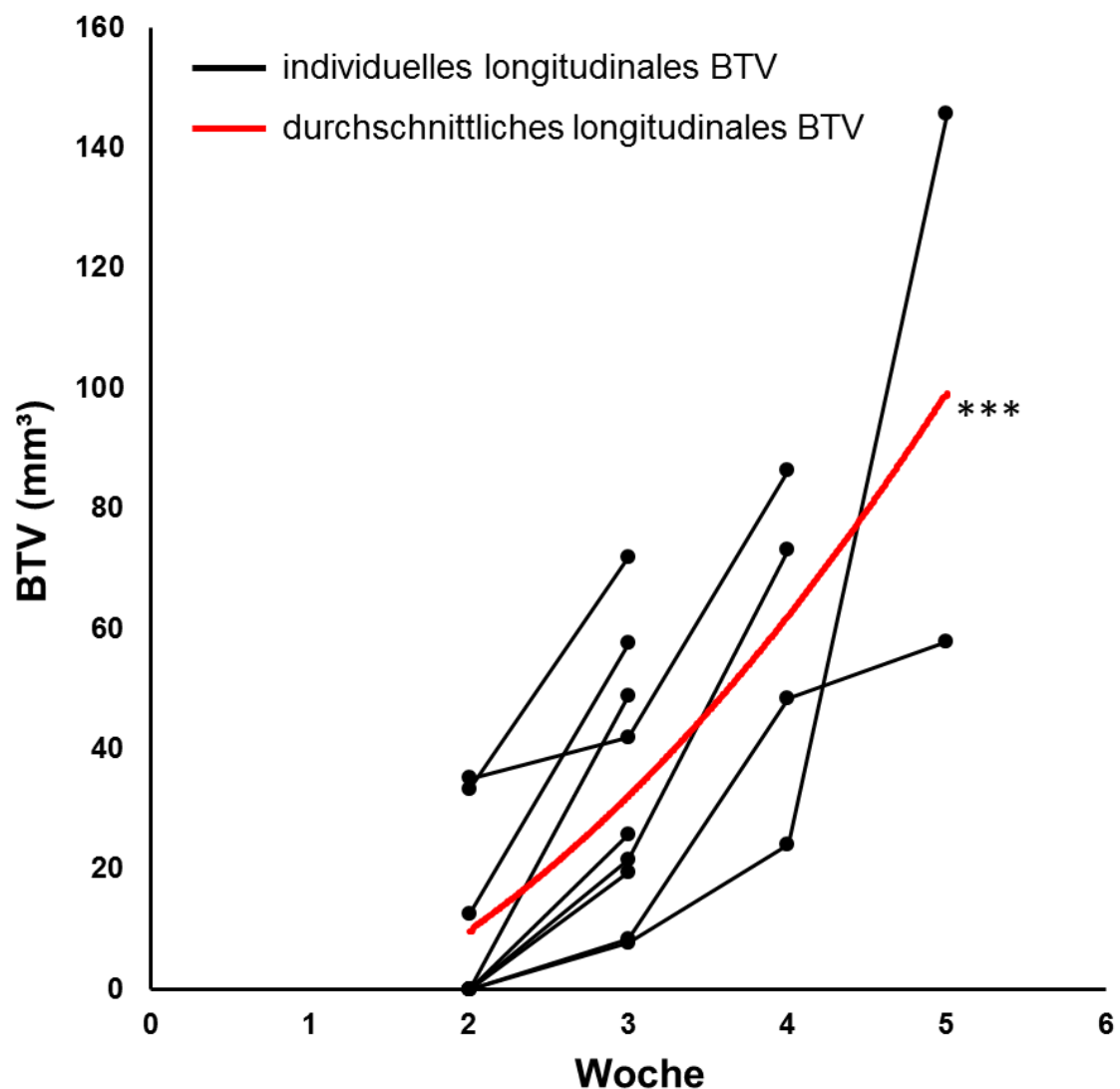


Abbildung 4.4.4 Entwicklung des individuellen BTV über die Zeit 2

Die durchschnittliche Steigerung des individuellen BTVs in der Gesamtheit der longitudinalen ^{18}F -FET PET-Scans betrug 33,7 mm³ pro Woche – hier ausgedrückt anhand eines quadratischen Kurvenfittings, welches eine zunehmende Progression des individuellen BTV zu späteren Zeitpunkten aufzeigt ($p = 0,77$; $p < 0,001$).

4.4.3 Validierung der neuentwickelten Methode

Um die Validität der retrospektiv entwickelten Methode zu überprüfen, wurde die Methode in einer neuen Mauskoorte prospektiv untersucht ($n = 15$ Tumormäuse). Auf ein longitudinales Scan-Setup wurde damit einhergehend bewusst verzichtet. Vielmehr wurden die Mäuse je nach Dauer des Tumorwachstums in vier Gruppen unterteilt (Woche 2, 3, 4 und 5 nach Inokulation von 50 000 GL261-Zellen) und die Mäuse jeder Gruppe erhielten einen einmaligen ^{18}F -FET PET-Scan. Direkt im Anschluss an den Scan wurden die Mäuse für die *ex vivo* Autoradiographie und die Histologie aufgearbeitet. Übereinstimmend mit der ersten Kohorte, in der die Methode entwickelt wurde, zeigen auch in der Validierungskohorte nahezu sämtliche Mäuse einen ^{18}F -FET-positiven Tumor in der PET in Woche 3 ($n = 2/3$), Woche 4 ($n = 4/4$) und Woche 5 ($n = 4/4$), nicht jedoch in Woche 2 ($n = 0/4$) nach Inokulation der 50 000 GL261-Zellen.

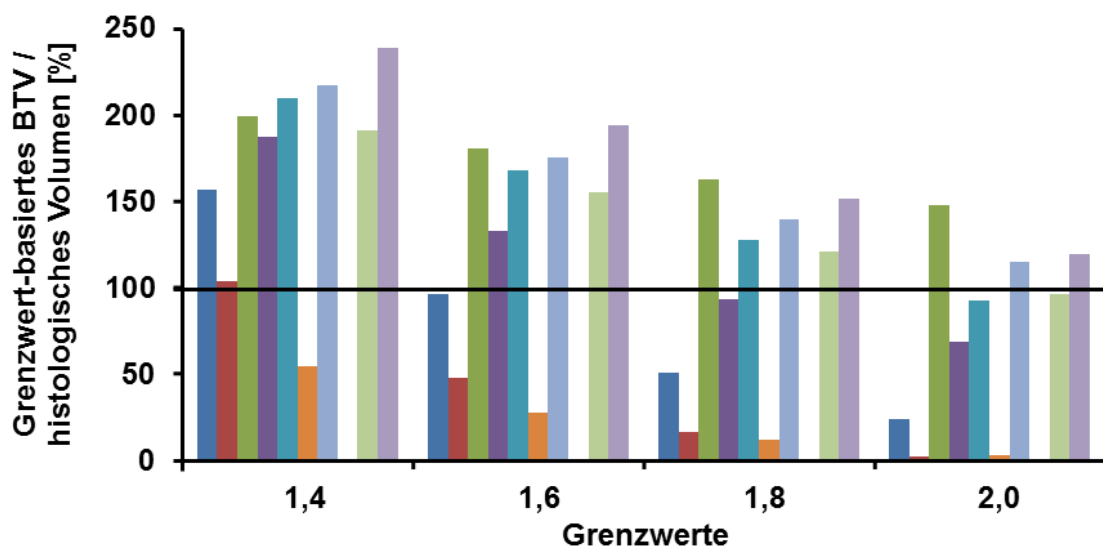


Abbildung 4.4.5 Grenzwert-basierte biologische Tumorumfina (BTV) in der ^{18}F -FET PET im Vergleich zum Tumorumfina in der Histologie 2

Analog zu den Ergebnissen in Abbildung 4.3.1 eignet sich auch in der Validierungskohorte keiner der getesteten Grenzwerte ($\text{SUV/BG} \geq 1,4$; $\geq 1,6$; $\geq 1,8$; $\geq 2,0$) für eine im Vergleich zur HE-Histologie valide Definition des biologischen Tumorumfins in sämtlichen Mäusen.

Die Ergebnisse der BTV-Bestimmung mit vordefinierten Grenzwerten (SUV/BG: $\geq 1,4$; $\geq 1,6$; $\geq 1,8$; $\geq 2,0$) waren in der Validierungskohorte konsistent zu den Vorergebnissen: Die vordefinierten Grenzwerte haben zu sehr unzuverlässigen BTVs im Vergleich zu den histologischen Tumorumfängen geführt (siehe Abbildung 4.4.5). Nun wurde in sämtlichen Tumormäusen der Validierungskohorte die neue Methode der TBR_{max} -basierten individuellen BTV-Bestimmung angewandt. Die hierbei entstandenen individuellen Grenzwerte haben zu allgemein hoch-akkuraten BTVs geführt (n = 09/15 Mäuse haben eine Abweichung von $< 7 \text{ mm}^3$ im Vergleich zum histologischen Tumorumfang gezeigt, siehe Abbildung 4.4.6).

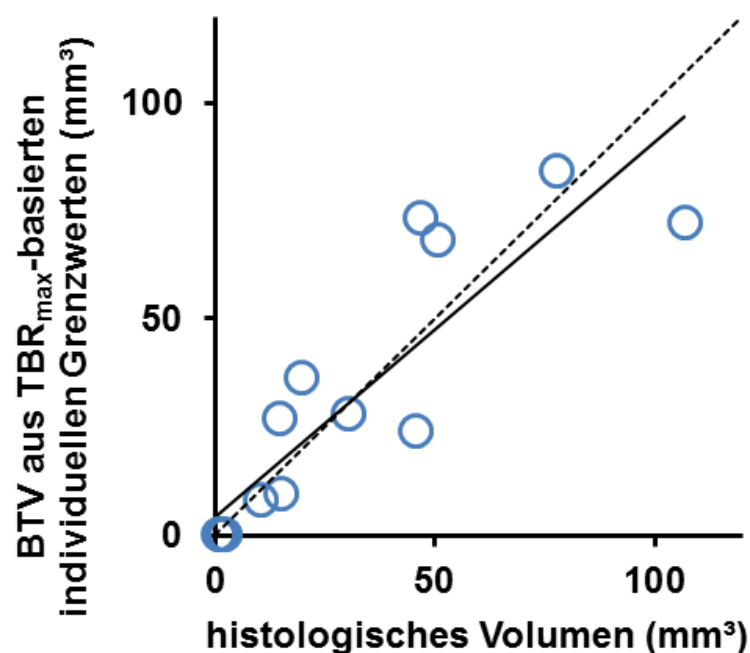


Abbildung 4.4.6 Validierung der TBR_{max} -basierten BTV-Bestimmung in der ^{18}F -FET PET anhand des histologischen Tumorumfanges

Trotz vereinzelt stärkerer Abweichungen in großen Tumoren war in der Validierungskohorte die Korrelation der individuellen BTVs mit den histologischen Tumorumfängen stark ($\rho = 0,88$, $p < 0,01$) und spricht für die Validität der Methode.

4.5 Diskussion der Tierexperimente

4.5.1 Grundvoraussetzungen für ^{18}F -FET PET im Glioblastom-Mausmodell

Wahl des Tiermodells

Entsprechend des übergeordneten Ziels, das Ansprechen auf experimentelle Gliomtherapien besser bildgebend darstellen zu können, wurde für die vorliegende Dissertation das in der experimentellen Forschung an Glioblastomtherapien (einschließlich Gentherapie, Immuntherapie und antiangiogener Therapie) am weitesten verbreitete syngene Modell benutzt. [105, 116-118] Die gewählte Anzahl der zu inokulierenden Tumorzellen (50 000 Zellen pro Maus) ergab sich im Wesentlichen aus Rücksprache mit der kooperierenden Arbeitsgruppe, welche die entsprechenden Tiermodelle an unserem Standort etabliert hat. Entsprechend der dort bestehenden Expertise und Vorerfahrungen wurden alle Scanzeitpunkte im Hinblick auf die zu erwartende Tumorgroße im zeitlichen Verlauf gewählt. Die so gewählte Anzahl an Zellen ist konsistent mit entsprechenden Daten aus der Literatur, wobei bisweilen sowohl niedrigere als auch höhere Zellzahlen implantiert werden. [119-121]

Körperliche Verträglichkeit für die Maus

Unsere Daten bestätigen die generelle Machbarkeit von ^{18}F -FET PET-Bildgebung im Glioblastommodell der Maus. Der Scanvorgang selbst, auch unter mehrfacher Wiederholung im Angesicht des longitudinalen Versuchsaufbaus, wurde gut von den Mäusen – insbesondere auch von den Tumormäusen – getragen. Es konnte eine hohe Anzahl an PET-Daten generiert werden ohne das Auftreten unvorhergesehener PET-bezogener Komplikationen oder erhöhter begleitender Belastungen für die Versuchstiere.

Frame-Setting in der ^{18}F -FET PET

Für die Versuche der vorliegenden Dissertation wurde das etablierte Frame-Setting aus der klinischen Routine übernommen (statisch, 20-40 min p. i. [122]). Sowohl die Translation des Frame-Settings in das Mausmodell als auch die in Mäuse zu applizierende Menge an ^{18}F -FET wurden vorab durch eigene Pilotversuche erprobt.

In der klinischen Routine gewinnen zunehmend auch frühere Frames für die Auswertung von ^{18}F -FET PET-Daten an Bedeutung. [114, 123] Präliminär konnte in eigenen Tierexperimenten der Wert der Betrachtung früher Frames sowie ein Nutzen der Betrachtung dynamischer ^{18}F -FET PET-Scans auch für das Mausmodell bestätigt werden (Daten unveröffentlicht).

4.5.2 Qualitative, visuelle Beurteilung des Tumorwachstums

Sowohl das kleinste histologisch gesicherte Tumolvolumen (19 mm³, Woche 3 nach Inokulation) als auch das kleinste mittels der neuentwickelten Methode definierte BTV (7 mm³, Woche 3 nach Inokulation) waren in der visuellen Betrachtung des PET-Bildes einwandfrei zu identifizieren. Diese Ergebnisse sind konsistent mit der aus der (klinischen) Literatur bekannten hohen Sensitivität des ^{18}F -FET als Biomarker für Gliomgewebe und der damit einhergehenden scharfen Abgrenzung zum gesunden Hirngewebe und zu anderen pathologischen Prozessen. [90, 124] Nichtsdestotrotz sind selbstverständlich eine Quantifizierung dieser Eindrücke sowie eine Reader-unabhängige Beurteilung von Tumorerkrankungen und von Tumorwachstum in der ^{18}F -FET PET unabdingbar. Dies ist umso wichtiger, wenn es gilt, sehr kleine Differenzen im Aufnahmeverhalten festzustellen, beispielsweise im Rahmen von experimentellen Therapiestudien. Bezüglich der Histologie muss limitierend angemerkt werden, dass Hirnschnitte während der Gewebeprozessierung auch schrumpfen können und Abweichungen des Volumens im Vergleich zur *in vivo* Situation möglich sind.

4.5.3 Quantitative PET-Beurteilung

Definition und Limitation von uniformen Tumor-VOIs

Bezüglich der quantitativen Beurteilung gilt es, insbesondere die ausgedehnten Dimensionen der tumorfreien Hintergrund-VOI hervorzuheben (123 mm³, siehe Abbildung 4.1.2) – das Volumen entspricht dem 30-Fachen bisher in der Literatur angegebener Hintergrund-VOIs und verspricht somit eine stabile Quantifizierung der Hintergrund-Aktivität. [125, 126] Aufgrund der großen Ausdehnung der VOI haben weder vereinzelte Aktivitätsfluktuationen im gesunden Hirn noch einzelne spill-in Voxel relevanten Einfluss auf den für die Auswertung verwendeten SUV_{mean} des

gesunden Hirns. Dies ist umso wichtiger, da auch gesundes Gewebe des umliegenden Schädelknochens in begrenztem Umfang freies ^{18}F akkumulieren kann. [108]

Die Verwendung einer uniformen Tumor-VOI ist angemessen für die Bestimmung von TBR_{max} , da jede den Tumor vollständig umschließende VOI auch den Voxel mit der maximalen tumoralen Traceraufnahme mit einschließt. Vorsicht ist geboten, wenn Mäuse eine derart starke Knochenaufnahme zeigen, dass die uniforme Tumor-VOI von relevantem Spill-In betroffen ist. Da der Spill-In entsprechend der gezeigten Ergebnisse jedoch selten ist, sich ausnahmslos im Randbereich des Tumors befindet und eine manuelle Maskierung der betroffenen Voxel möglich ist, stellt der Knochen-Spill-In keine bedeutende Limitation dar. Die Anwendung einer uniformen Tumor-VOI für die Bestimmung von TBR_{mean} birgt hingegen Limitationen, da eine uniforme VOI nicht die tatsächlich unterschiedlichen Tumor-Ausdehnungen ausreichend abdecken kann, jeder einzelne in die VOI eingeschlossene Voxel jedoch für die Bestimmung von TBR_{mean} relevant ist. Die für die initialen Auswertungen genutzte uniforme Tumor-VOI orientiert sich maßgeblich an den größeren Tumoren, weshalb diese VOI zwangsläufig nicht optimal für kleinere Tumoren geeignet ist.

Quantitative Beurteilung des Tumorwachstums

Der zeitlich Progress der Standard-PET-Parameter im GL261-Mausmodell ist vereinbar mit den natürlichen Veränderungen und dem Wachstum von Tumoren über die Zeit, genauso wie auch in Humandaten ein Progress der tumoralen ^{18}F -FET-Aufnahme bekannt ist. [102, 127] Nichtsdestotrotz ist festzuhalten, dass die genauen pathophysiologischen Vorgänge, welche einen Beitrag zu einer erhöhten ^{18}F -FET-Aufnahme leisten, zum jetzigen Zeitpunkt nicht vollständig verstanden sind und die beobachtete Zunahme der ^{18}F -FET-Aufnahme vermutlich multifaktorieller Genese ist. Als mögliche Ursachen sind eine mit dem Tumorwachstum einhergehende erhöhte Expression von Aminosäure-Transportern sowie Veränderungen der tumoralen Zelldichte denkbar. [87]

Die interindividuelle Unabhängigkeit der ^{18}F -FET-Aufnahme vom Tumolvolumen lässt erkennen, dass die Standard-PET-Parameter nicht als Surrogatmarker des Tumorwachstums per se im Sinne einer Volumenzunahme interpretiert werden können. Die Ursache dieser sich in TBR_{max} und TBR_{mean} wiederfindenden inter-

individuellen Aufnahmevariabilität ist unklar. Die vorgefundene Heterogenität bleibt in zukünftigen Studien im Glioblastom-Mausmodell genauer zu untersuchen und bietet womöglich eine Chance für ein besseres Verständnis der genauen Funktionsweise der ^{18}F -FET-Aufnahme. Vor diesem Hintergrund ist auch ein Beitrag der Methodik selbst zur Heterogenität zu erwägen, da die weiter oben ausgeführte mangelnde Passgenauigkeit einer uniformen Tumor-VOI potentiell zu Unter- oder Überschätzungen der tumoralen ^{18}F -FET-Aufnahme führen kann. Dem entgegensetzen ist allerdings, dass selbst unter Heranziehen *individueller* und nahezu passgenauer Tumor-VOIs in sämtlichen Mäusen (weiter unten genauer ausgeführt) die Varianz von TBR_{mean} nicht abnimmt: Dies lässt vielmehr darauf schließen, dass die Heterogenität eine naturgemäße und korrekt abgebildete Eigenschaft des Modells ist und nicht auf methodologischen Unzulänglichkeiten beruht. Letztere Erkenntnis sowie die Tatsache, dass die Standard-PET-Parameter nicht mit der Tumorgroße korrelieren, verdeutlichen umso mehr, dass TBR_{max} und TBR_{mean} allein nicht hinreichend für eine komprehensive *in vivo* Charakterisierung von Hirntumoren sind. In den ^{18}F -FET PET-Daten sind mehr Informationen enthalten, als über die Standard-PET-Parameter allein abgebildet werden können.

Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC)

Mit Anwendung der PVEC auf den vorliegenden PET-Datensatz konnte die Präzision der ^{18}F -FET PET erhöht werden. Vorherige Abweichungen der PET-Ergebnisse von den Ergebnissen der hochauflösenderen *ex vivo* ^{18}F -FET Autoradiographie entstehen durch die im Vergleich geringere Auflösung des PET-Scanners. [128] Trotz einer erfolgreichen Reduktion des Fehlers der TBR_{mean} -Werte durch die Methode der PVEC ist hierbei limitierend zu berücksichtigen, dass ausschließlich eine Ratio für tumorale Traceraufnahme und Traceraufnahme im gesunden Hirn aus der PVEC hervorgeht und daraus nicht unmittelbar Aussagen über regionale Verteilungsmuster der Traceraufnahme innerhalb des Tumors hervorgehen.

4.5.4 Volumetrische Verfahren

Eine wesentliche Erkenntnis der Tierexperimente der vorliegenden Dissertation besteht darin, dass die in der klinischen Routine übliche Methode der semi-automatischen Grenzwert-basierten BTV-Bestimmung in der ^{18}F -FET PET inkonsistente Ergebnisse im Vergleich zur Histologie erzeugt (Abbildung 4.3.1 und Abbildung 4.4.5) und damit nicht auf das gängige GL261-Mausmodell übertragbar ist. Es wurde Wert darauf gelegt, die im Menschen etablierten Grenzwerte für die BTV-Bestimmung mit einzubeziehen. [99, 100, 114, 129, 130] Trotz der Eignung im Menschen hat sich keiner der vordefinierten festen Grenzwerte in der Maus bewährt. Hier ist es ein großer Vorteil der tierexperimentellen Studien gegenüber den Humanstudien, dass Ganzhirnschnitte angefertigt und Tumorumfänge histologisch bestimmt werden können. Ein in Patienten *in vivo* bestimmtes BTV kann unmittelbar nach dem ^{18}F -FET PET-Scan selbstredend nicht histologisch verifiziert werden, was eine klare Limitation in Hinblick auf die Methodik der BTV-Bestimmung in der klinischen Praxis darstellt. Dieser Zusammenhang unterstreicht den Wert präklinischer Untersuchungen und methodologischer Anstrengungen in der Präklinik für die klinische Praxis – wobei selbstverständlich auch eine Translation einer Methode von der Maus in den Menschen einer sorgsamsten Verifizierung bedarf. Studien in Patienten haben PET-basierte BTVs mit Tumorumfängen in MRT-Untersuchungen verglichen und teilweise substantielle Diskrepanzen zwischen beiden Bildgebungs-Modalitäten feststellen können. [130-132]

Eine Limitation des tierexperimentellen Teils der vorliegenden Dissertation ist sicherlich der fehlende Vergleich der PET-Daten mit korrespondierenden MRT-Daten (oder CT-Daten), welcher eine direkte Gegenüberstellung struktureller und funktioneller Informationen zur Verbesserung der BTV-Methodik ermöglicht hätte. In der Tat erfüllen jedoch wenige Einrichtungen überhaupt die logistischen Voraussetzungen für eine hybride PET/MRT-Bildgebung in der Maus – sei es seriell oder simultan – was die Berechtigung alleiniger PET-Untersuchungen aus rein logistischen Gründen schon unterstreicht. Hinzu kommt, dass mehrere Studien eine bessere Abgrenzung vitalen Tumorgewebes mittels ^{18}F -FET PET im Vergleich zur MRT nahelegen, insbesondere nach multimodaler Therapie; Letztere kann mit therapiebedingten Veränderungen in der MRT einhergehen, welche nicht hinreichend von vitalem Tumorgewebe unterschieden werden konnten. [99, 133-136]

Nachdem die Methode aus der klinischen Routine zur BTV-Bestimmung mittels ^{18}F -FET PET sich schließlich eindeutig als nicht geeignet für das Glioblastom-Mausmodell erwiesen hat, wurde in einem neuen Ansatz in jeder Maus einzeln der optimale *individuelle* Grenzwert bestimmt, welcher für eine mit der Referenzhistologie kongruente BTV-Bestimmung vonnöten ist. Die auf diese Weise bestimmten Grenzwerte zeigen eine hohe Variabilität. Jedoch besteht überraschenderweise eine nahezu perfekte positive Korrelation des individuellen Grenzwertes mit TBR_{max} (Abbildung 4.4.1), welche zur Entwicklung einer individualisierten BTV-Bestimmung geführt hat. In einer zusätzlichen Kohorte ($n = 15$) konnten Reproduzierbarkeit und Validität der neuen Methode bestätigt werden. Schließlich hat die neue Methode in beiden Versuchsrunden zu akkuraten BTV-Bestimmungen geführt und damit deutlich bessere Ergebnisse geliefert als die Translation der bisher üblichen Methode aus der klinischen Praxis. Einige wenige Ausreißer in besonders großen Tumoren könnten als Limitation dieser Methode angesehen werden. Nichtsdestotrotz hat die neue Methode individualisierter Grenzwerte die Präzision der BTV-Bestimmung maßgeblich verbessert im Vergleich zur bisher gängigen Standard-Methode (welche standardisierte Grenzwerte benutzt) und überwiegend akkurate Approximationen der histologischen Tumervolumina mittels alleiniger ^{18}F -FET PET ermöglicht.

Teile der Tierexperimente der vorliegenden Dissertation sind in einer eigenen Publikation (Erstautor) in der Zeitschrift *Frontiers in Neuroscience* beschrieben (doi: 10.3389/fnins.2016.00260, [137]). Aus dieser Publikation sind einige Abbildungen in originaler bzw. in abgewandelter Form übernommen. In der Publikation in *Frontiers in Neuroscience* wurde explizit darauf hingewiesen, dass ein Großteil der Publikation auf die vorliegende Dissertation zurückgeht („*Major parts of this paper originated from the doctoral thesis of AH.*“).

5 Diskussion

5.1 ^{18}F -FET PET-Bildgebung des Glioblastoms im Menschen

Während im Bereich der neuropathologischen Charakterisierung von Hirntumoren in den letzten Jahren unverkennbare Fortschritte gelungen sind und insbesondere die neuen Erkenntnisse im Bereich der Molekularpathologie zu einem Update der WHO-Klassifikation der Tumoren des Zentralnervensystems geführt haben [22], wird den bildgebenden Fächern im Vergleich dazu sicherlich noch ungenügend Aufmerksamkeit zuteil. Tatsächlich haben nuklearmedizinische Verfahren das Potenzial, eine noch gezieltere Definition von Hirntumor-Subentitäten zu ermöglichen und dies – zum erheblichen Vorteil der Patientinnen und Patienten – *nicht-invasiv* (während jede molekulargenetische Diagnostik bislang durch Biopsie oder Resektion gewonnenes Tumorgewebe voraussetzt). [138] Eine denkbare klinisch-relevante Anwendungsmöglichkeit der PET-Bildgebung besteht deshalb schlicht darin, bereits aus der Neuropathologie bekannte Marker bildgebend darzustellen, analog etwa zur metabolen MRT-Bildgebung des 2-Hydroxyglutarats als Ansatz für eine nicht-invasive Abbildung der IDH-Expression in Gliomen. [139] Der Vorteil dieses Ansatzes bestünde einerseits in der Nicht-Invasivität der Methode im Vergleich zu den bestehenden neuropathologischen Gewebeanalysen sowie andererseits in einer möglichwerdenden *in vivo* Darstellung von Tumorerheterogenität. Eine sowohl grundlagenwissenschaftlich als auch für die klinische Prognostik noch ergiebiger Anwendungsmöglichkeit der PET besteht jedoch darin, tumorbiologisch relevante Informationen auch über die neuropathologischen Marker hinaus generieren zu können: So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die ^{18}F -FET PET auch innerhalb der molekulargenetisch definierten Gruppe der IDH-mutierten Astrozytome noch prognostisch distinkte Subgruppen herausarbeiten kann, welche sich nach heutigem Stand nicht durch molekulargenetische Marker der Neuropathologie oder andere gewebebasierte Analysen erschließen lassen. [140]

Im Gegensatz zu den eingangs erwähnten Neuerungen im Bereich der neuropathologischen Molekulargenetik – welche mit Aktualisierung der WHO-Klassifikation auch als neuer Standard in der Diagnostik der Gliome gelten

dürfen [22] – sind die nur kurz angeschnittenen innovativen PET-Anwendungsmöglichkeiten hingegen noch keineswegs allgemeingültiger Standard. Nach und nach spiegeln sich die kontinuierlich steigende Wertigkeit der PET-Bildgebung für die Neuroonkologie und die gewinnbringende Weiterentwicklung komplexer Bildgebungsverfahren jedoch auch in der Fachliteratur wider [8, 21, 138, 141] und haben die RANO-Group letztendlich erstmals dazu veranlasst, eigene Stellungnahmen exklusiv zur PET-Bildgebung von Gliomen [7] und Meningeomen [82] herauszugeben. Bei anhaltender und intensivierter Ausschöpfung des hohen Potenzials der neuroonkologischen PET-Bildgebung sind – grundsätzlich – ähnlich einschneidende Fortschritte für eine prognostisch relevante Optimierung der Therapie-Algorithmen beim Glioblastom wie durch die Neuerungen der molekulargenetischen Neuropathologie denkbar. [74]

Der flächendeckende Einsatz der PET-Bildgebung in der Neuroonkologie (vorzugsweise mit der ^{18}F -FET PET) wird bereits jetzt von führenden Experten empfohlen und die PET-basierte neuroonkologische Forschung insgesamt sehr positiv diskutiert. [8, 138, 141] Ein wichtiger Schritt in Richtung flächendeckender Anwendung der PET sind selbstredend zum einen die Genehmigung seitens der jeweiligen nationalen oder internationalen Gesundheitsbehörden und zum anderen die vollumfängliche Leistungsübernahme seitens der Krankenkassen, welche für eine Vielzahl an PET-Tracern noch nicht gegeben ist bzw. nur auf eine sehr limitierte Anzahl an Indikationen beschränkt ist. Auch der Einsatz des ^{18}F -FET als PET-Tracer für die Diagnostik von Hirntumoren wie dem Glioblastom ist hiervon betroffen. [141] Trotz befürwortender Kosten-Wirksamkeits-Analysen zum Einsatz der ^{18}F -FET PET in der klinischen Neuroonkologie ist eine reguläre Kostenübernahme seitens der Krankenkassen nicht gewährleistet und die Kosten müssen teilweise von den Kliniken selbst getragen werden. [141-144]

5.2 ^{18}F -FET PET-Bildgebung des Glioblastoms in der Maus

Angesichts des weiter oben angeführten hohen Stellenwertes der ^{18}F -FET PET in der klinischen Neuroonkologie ist es fast verwunderlich, dass vergleichsweise wenige Forschungsgruppen Arbeiten zur erfolgreichen *präklinischen* Anwendung der ^{18}F -FET PET vorlegen konnten. Zum einen ist dies historisch damit zu erklären, dass

von der klinischen Praxis separate und ausschließlich für Kleintiere vorgesehene PET-Scanner eine vergleichsweise junge Entwicklung sind: Die ersten Arbeiten mit eigens für Kleintiere vorgesehenen PET-Scannern wurden um die Jahrtausendwende herum publiziert – in einer Zeit also, in der das ^{18}F -FET noch nicht hergestellt war bzw. erst präliminäre Kenntnisse hierzu vorlagen. [86, 145] Vor der Entwicklung erster provisorischer PET-Scanner für die Maus und vor der späteren Serienproduktion industrieller Kleintier-PET-Scanner wurden für das PET-Imaging von Mäusen oder Ratten vielmehr Scangeräte aus der Patientenversorgung herangezogen, teilweise mit entsprechenden Einschränkungen für die Qualität der PET-Daten: Die räumliche Auflösung während der Anfänge des Kleintier-PET-Imagings war für die Darstellung muriner Hirntumoren schlicht unzureichend. [146] Auch heutzutage werden trotz der prinzipiellen Verfügbarkeit spezieller Scanner für das Kleintier-Imaging auch bei einem unimodalem Setup noch immer Scanner aus der Patientenversorgung herangezogen, z. B. die sogenannte „Handspule“ – eigentlich vorgesehen für bildgebende Aufnahmen der menschlichen Hand. [147] Dies ist sicherlich auch den teils hohen Kosten für die zusätzliche Anschaffung hochspezialisierter Kleintiergeräte geschuldet. Eventuell interessierte Forschungszentren haben somit aus rein logistischen Gründen nicht immer die notwendigen Voraussetzungen für eine molekulare Bildgebung des Glioblastoms mittels ^{18}F -FET PET in der Maus. Mit der Zeit sind jedoch die Kleintier-PET-Scanner zunehmend besser verfügbar geworden und auch das ^{18}F -FET selbst ist aufgrund seiner etablierten klinischen Relevanz und seiner günstigen Halbwertszeit flächendeckend erhältlich. [141] Darüber hinaus hat der Trend zu hybriden PET-Scannern – kombiniert mit strukturellen Bildgebungsmodalitäten – auch die Präklinik erreicht: So wurde erst kürzlich am Münchner Standort des Deutschen Zentrums für neurodegenerative Erkrankungen (DZNE) der Helmholtz-Gemeinschaft am Campus Großhadern des Klinikums der Universität München (LMU) ein moderner hybrider PET/MRT-Scanner exklusiv für Kleintiere installiert. Es wird angestrebt, die laufenden Folgeprojekte der vorliegenden Dissertation künftig auch dort durchzuführen. Der konkrete Bezug der multimodalen Bildgebung zu den im Rahmen der vorliegenden Dissertation durchgeführten Versuchen wird in der Diskussion des tierexperimentellen Teils besprochen (siehe Punkt 4.5.4).

Auch wenn mit den heutigen Kleintier-Scannern eine PET-Bildgebung von Hirntumoren in Maus und Ratte also prinzipiell möglich geworden ist, bleibt sie in der Praxis technisch weiterhin herausfordernd. [128] Um nun die klinisch erwiesenen Vorzüge der ^{18}F -FET PET auch der *experimentellen und präklinischen* Neuroonkologie zugänglich zu machen – beispielsweise bei der wichtigen und ansonsten schwierigen *in vivo* Beurteilung von Therapieerfolgen – besteht ein großer Bedarf, sich grundlegend mit der ^{18}F -FET PET im Mausmodell zu befassen: Eine umfassende Analyse der Anwendbarkeit der ^{18}F -FET PET für die molekulare Bildgebung des murinen Glioblastoms ist hierfür unabdingbar. Viele der klinischen Erfolge der ^{18}F -FET PET für die Bildgebung von Glioblastomen setzen teils komplexe methodologische Grundlagen voraus: Wie beispielsweise definiert man genau das biologische Tumolvolumen in der PET? Welches Zeitfenster der ^{18}F -FET-Aufnahme in Hirntumoren ist von Interesse? Sind die in der Nuklearmedizin typischerweise angewendeten standardisierten Werte zur Aufnahme-Quantifizierung überhaupt ausreichend für die Beurteilung von Hirntumoren in der PET? Ist ein volumetrisches Monitoring des Tumorwachstums mittels ^{18}F -FET PET grundsätzlich möglich? Analog hierzu lassen sich eine Vielzahl an weiteren Fragen stellen, die deutlich werden lassen, dass eine neue Modalität oder ein neues Anwendungsgebiet einer Modalität einer intensiven Auseinandersetzung mit methodologischen Aspekten bedürfen und Methodik generell kritischer Überprüfung und kontinuierlichem Optimierungsbestreben ausgesetzt sein sollte.

Vor diesen Erwägungen können die Ergebnisse des tierexperimentellen Teils der vorliegenden Dissertation als ambitionierter Beitrag zur Etablierung der präklinischen ^{18}F -FET PET für die molekulare Bildgebung des Glioblastoms verstanden werden. So konnte gezeigt werden, dass ^{18}F -FET sich auch im Kleintier-PET grundsätzlich sowohl in Bezug auf technische Aspekte wie Auflösung oder Belastung der Tiere als auch seitens der spezifischen Traceraufnahme für die Darstellung des murinen Glioblastoms eignet. Grundvoraussetzungen für die Anwendung der ^{18}F -FET PET im Glioblastom-Mausmodell werden in der Diskussion des tierexperimentellen Teils der Dissertation näher beleuchtet (siehe Punkt 4.5.1). In Bezug auf das quantitative Wachstumsmonitoring des Glioblastoms mittels ^{18}F -FET PET konnten zunächst die Vorteile und Limitationen der Verwendung uniformer Target-VOIs aufgezeigt werden

(ausführlicher diskutiert in Punkt 4.5.3). Anschließend konnte erstmals gezeigt werden, dass die klinisch übliche Methode der BTV-Bestimmung unzureichend für das Mausmodell ist und erstmals eine histologisch-verifizierte Methode für eine individualisierte BTV-Bestimmung vorgestellt werden. Den hohen Anforderungen an die räumliche Auflösung wurde unter anderem durch Etablierung einer Partialvolumeneffekt-Korrektur basierend auf der *ex vivo* ^{18}F -FET Autoradiographie Rechnung getragen. Schlussendlich werfen die präklinischen Ergebnisse auch spannende tumorbiologische Fragen auf: Welcher Mechanismus steht etwa hinter der Korrelation von TBR_{max} und individuellem Grenzwert für die BTV-Bestimmung? Partialvolumeneffekte als mögliche Erklärung konnten ausgeschlossen werden, da weder TBR_{max} noch der individuelle Grenzwert mit dem histologischen Tumolvolumen korrelieren. Zum jetzigen Zeitpunkt bleibt die Ursache somit noch spekulativ und weitere präklinische Arbeiten zur Erforschung des Pathomechanismus sind erforderlich.

5.3 Ausblick nuklearmedizinischer Verfahren beim Glioblastom

Aktuelle Bestrebungen für eine Zulassung seitens der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) für einen weitläufigen Einsatz der ^{18}F -FET PET bei Gliomen dauern an: Die kontinuierlich wachsende und weitgehend fürsprechende Datenlage lässt die reguläre FDA-Zulassung eines Aminosäure-Tracers für die klinische PET-Bildgebung des Glioblastoms indes zunehmend wahrscheinlich werden. [7] Während der überwiegende Teil der bisherigen Erfolge der PET-Bildgebung hirneigener Tumoren in Verbindung mit dem Aminosäure-Tracer ^{18}F -FET steht, gibt es jedoch weitere aussichtsreiche Tracer, welche für ihren Gebrauch in der Glioblastom-Bildgebung vielversprechende erste Ergebnisse zeigen und weiter erforscht werden müssen [80]: Zu nennen sind hier etwa originäre Inflammations-Tracer, zum Beispiel Biomarker für Makrophageninfiltration bzw. Mikroglia-Aktivität im Gehirn, welche eine starke Anreicherung auch in Glioblastomen zeigen (allen voran PET-Tracer mit der Zielstruktur TSPO [81, 148, 149]). Auch Vaskularisations-Tracer haben großes Potential, zum Beispiel für die longitudinale Verlaufsdagnostik bei Glioblastomen – insbesondere unter antiangiogener Therapie. [150] Grundsätzlich ist anzunehmen, dass PET-basierte Diagnostik weiterhin zu bedeutenden Fortschritten im Bereich der Prognostik und Prädiktion

neuroonkologischer Erkrankungen beitragen wird. [21] Eine zunehmend wichtige Rolle werden hierbei potenziell auch Verfahren des sogenannten *machine-based Learnings* im Zuge der aktuellen Entwicklungen von Radiomics und Radiogenomics spielen. [151, 152]

Ein großer Vorteil der nuklearmedizinischen Forschung an Hirntumoren ist die grundsätzliche Möglichkeit der Entwicklung zielgerichteter Radionuklidtherapien. Während strukturelle Bildgebungsmodalitäten sich per se auf die Diagnostik beschränken müssen, können die aus der nuklearmedizinischen Diagnostik bekannten Radiopharmaka wahlweise auch mit stark radioaktiven Strahlern gekoppelt werden, welche die Tumorzellen direkt therapeutisch angreifen. Erfolgreiche Ansätze der Radionuklidtherapie in der klinischen Neuroonkologie wurden von der eigenen Arbeitsgruppe für Meningeome vorgestellt unter der Verwendung von DOTA-Radionukliden [153] und stellen eine vielversprechende Therapieoption für aggressive Meningeome dar. [154] Auch für das Glioblastom wurden vereinzelt Ansätze der Radionuklidtherapie veröffentlicht. [155, 156] Vielversprechend für die Behandlung von Glioblastomen scheint im Sinne eines Theranostic-Ansatzes insbesondere die PSMA-Radionuklidtherapie zu sein: Sie ist für die Behandlung von Prostata-Karzinomen bereits weitgehend etabliert und kann aufgrund der PSMA-Expression in Gliomen theoretisch geradlinig auf das Glioblastom übertragen werden. [157, 158] Auch in der eigenen Arbeitsgruppe werden sowohl klinische als auch präklinische Ansätze hierzu verfolgt – teilweise basierend auf den (präklinischen) Ergebnissen der vorliegenden Dissertation – und sind insgesamt vielversprechend (Daten unveröffentlicht).

Insgesamt bleibt die PET-Bildgebung für die umfassende Beurteilung von Glioblastomen ein wichtiger Bestandteil, der bisher nicht durch neuropathologische oder etwa radiologische Verfahren gleichbedeutend zu ersetzen ist. Vor dem Hintergrund der Nicht-Invasivität der PET ist langfristig vielmehr die schrittweise Substitution neuropathologischer Gewebeanalysen durch bildgebende Surrogatmarker denkbar. Zum jetzigen Zeitpunkt liefern die verschiedenen strukturellen und fortgeschrittenen Bildgebungsmodalitäten sowie die neuropathologischen Gewebeanalysen jedoch allen voran *komplementäre* Informationen und sollten in der Diagnostik von Glioblastomen deshalb unbedingt Hand in Hand mit der PET gehen. Schlussendlich lässt die Kombination neuartiger

Therapieansätze einerseits mit einer wesentlich akkurateren Bildgebung mittels PET andererseits auf die Entwicklung erfolgreicher, personalisierter Therapiekonzepte für Glioblastome hoffen und könnte das schlechte Outcome von Glioblastom-Patienten und -Patientinnen entscheidend verbessern. Daher gilt es, die Möglichkeiten der PET für ihren diagnostischen Einsatz bei Hirntumoren weiter voranzutreiben. Auch die Möglichkeiten eines unmittelbar therapeutischen oder theranostischen Einsatzes der PET im Sinne einer Radionuklidtherapie des Glioblastoms sind vielversprechend.

6 Zusammenfassung

Um die klinisch erwiesenen Vorzüge der ^{18}F -FET PET auch der experimentellen und präklinischen Neuroonkologie zugänglich zu machen, besteht ein großer Bedarf, sich grundlegend mit der ^{18}F -FET PET im Mausmodell zu befassen. Ziel der vorliegenden Dissertation ist es, umfassend die Anwendbarkeit der ^{18}F -FET PET für die molekulare Bildgebung des murinen Glioblastoms zu analysieren mit besonderem Augenmerk auf das Monitoring von Tumorwachstum.

In den tierexperimentellen ^{18}F -FET PET-Studien der vorliegenden Dissertation konnte gezeigt werden, dass die klinische Methode zur Bestimmung des biologischen Tumervolumens (BTV) mittels fester Grenzwerte sich *nicht* auf das murine GL261-Modell übertragen lässt. Vielmehr konnte herausgearbeitet werden, dass für die Tumorbegrenzung in der PET *individuelle* Grenzwerte zielführend sind. Vor diesem Hintergrund wurde eine Methode der individualisierten BTV-Bestimmung entwickelt, welche im Vergleich zu histologischen Kontrolluntersuchungen hochvalide Schätzungen der Tumervolumina ergab. Auch der geringen Größe muriner Glioblastome wurde Rechnung getragen: So konnte über die hochauflösende *ex vivo* ^{18}F -FET Autoradiographie eine Methode der Partialvolumeneffekt-Korrektur entwickelt und die Genauigkeit der PET-Quantifizierung weiter erhöht werden. Im GL261-Modell scheint die ^{18}F -FET-Aufnahme nicht direkt vom Tumervolumen abzuhängen, jedoch ist intraindividuell ein zeitlicher Progress der ^{18}F -FET-Aufnahme zu beobachten. Das Glioblastomwachstum in der Maus kann mittels ^{18}F -FET PET sowohl volumetrisch als auch über die zunehmende tumorale Traceraufnahme erfasst werden.

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Dissertation gezeigt werden, dass die ^{18}F -FET PET sich sehr wohl auch im präklinischen Setting für die molekulare Bildgebung des Glioblastoms eignet, wobei verschiedene Parameter der ^{18}F -FET PET-Auswertung zu diesem Zwecke gezielt optimiert wurden. Erstmals konnten Ansätze für ein volumetrisches *in vivo* Monitoring des Tumorwachstums mittels ^{18}F -FET PET im Glioblastom-Mausmodell aufgezeigt werden, wodurch der Grundstein für zukünftige tierexperimentelle Therapiestudien mit *in vivo* Evaluation des Therapieansprechens gelegt ist.

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

¹¹ C	Kohlenstoff-11
¹¹ C-MET	¹¹ C-S-Methyl-L-Methionin
¹³ N	Stickstoff-13
¹⁵ O	Sauerstoff-15
¹⁸ F	Fluor-18
¹⁸ F-DOPA	¹⁸ F-Fluoro-L-Dihydroxyphenylalanin
¹⁸ F-FDG	¹⁸ F-Fluordesoxyglucose
¹⁸ F-FET	¹⁸ F-Fluoroethyl-L-Tyrosin
¹⁸ F-FLT	¹⁸ F-Fluorothymidin
¹⁸ F-FMISO	¹⁸ F-Fluoromisonidazol
⁵⁷ Co	Cobalt-57
⁶⁸ Ga	Gallium-68
⁶⁸ Ga-DOTATATE	⁶⁸ Ga-DOTA ⁰ -Tyr3-Octreotid
⁸² Rb	Rubidium-82
ANOVA	Varianzanalyse (<i>analysis of variance</i>)
B6	C57 black 6
BCS	<i>Body Condition Score</i>
BG	Hintergrund (<i>background</i>)
BTV	biologisches Tumervolumen
C57BL/6	C57 black 6
CA	Kalifornien (<i>California</i>), USA
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CT	Computertomographie o. Computertomogramm
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Minimal Essential Medium</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
DOTA	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure
DPET	<i>Inveon dedicated PET</i> (Siemens, Deutschland)
DZNE	Deutsches Zentrum für neurodegenerative Erkrankungen
EANO	Europäische Gesellschaft für Neuroonkologie (<i>European Association of Neuro-Oncology</i>)
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EMEM	<i>Eagle's Minimal Essential Medium</i>
Eq	Gleichung (<i>equation</i>)
FCS	fetales Kälberserum (<i>fetal calf serum</i>)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> , USA
FELASA	<i>Federation for Laboratory Animal Science Associations</i>
FWHM	Halbwertsbreite (<i>full width at half maximum</i>)
G	Gauge
GBM	Glioblastom (<i>glioblastoma multiforme</i>)
GIM	Gesellschaft für innovative Mikroökologie
GL26	Gliom 26 (<i>Glioma 26</i>)
GL261	Gliom 261 (<i>Glioma 261</i>)

GMO	gentechnisch modifizierter Organismus
GTM	geometrische Transfermatrix
HCl	Chlorwasserstoff
HE	Hämatoxylin-Eosin
i. p.	intraperitoneal
IDH	Isozitatdehydrogenase
IVC	<i>individually ventilated cage</i>
keV	Kiloelektronenvolt
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KPS	<i>Karnofsky performance status scale</i>
K-ras	<i>V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
l	Liter
LAT	<i>L-type amino acid transporter</i>
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität München
MAP	<i>Maximum-a-posteriori</i>
MBq	Megabecquerel
MGMT	6-O-Methylguanin-DNA-Methyltransferase
mg	Milligramm
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ³	Kubikmillimeter
MRT	Magnetresonanztomographie o. Magnetresonanztomogramm
mSv	Millisievert
n	Anzahl der Stichprobe
N	Größe der Grundgesamtheit
NaCl	Natriumchlorid
NIH	<i>National Institutes of Health, USA</i>
NOD/SCID	<i>Severe Combined Immunodeficiency / Non-Obese Diabetic</i>
O ₂	molekularer Sauerstoff
OP	Operation
OSEM	<i>Ordered Subset Expectation Maximization</i>
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit (<i>probability value</i>)
p. i.	<i>post injectionem</i>
p53	Genprodukt des TP53-Tumorsuppressor-Gens (Protein mit angenommener Molekularmasse von 53 Kilodalton)
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>)
PCV	Procarbazin, Lomustin, Vincristin
PDX	<i>patient-derived xenografts</i>
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFA	Paraformaldehyd
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität (<i>potentia hydrogenii</i> o. <i>pondus hydrogenii</i>)
PSMA	prostataspezifisches Membranantigen
PVE	Partialvolumeneffekt
PVEC	Partialvolumeneffekt-Korrektur (<i>partial volume effect correction</i>)
RANO	<i>Response Assessment in Neuro-Oncology</i>
rH	relative Luftfeuchtigkeit (<i>relative humidity</i>)

RMSE	Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme (<i>root mean square error</i>)
ROI	<i>region of interest</i>
s. c.	subkutan
SD	Standardabweichung (<i>standard deviation</i>)
SUV	<i>standardized uptake value</i>
TBR	<i>tumor-to-brain-ratio</i> o. <i>tumor-to-background-ratio</i> o. <i>target-to-background-ratio</i>
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TSPO	18 kDa <i>Translocator Protein</i> / <i>Tryptophan-rich sensory protein</i>
VOI	<i>Volume of interest</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation (<i>World Health Organization</i>)
ZNS	Zentralnervensystem o. zentrales Nervensystem
ρ	Pearsons Korrelationskoeffizient
% Vol	Volumenprozent
°C	Grad Celcius
μ l	Mikroliter
μ m	Mikrometer

7.2 Literaturverzeichnis

1. Herrlinger, U., N. Schafer, J.P. Steinbach, A. Weyerbrock, P. Hau, R. Goldbrunner, F. Friedrich, V. Rohde, F. Ringel, U. Schlegel, M. Sabel, M.W. Ronellenfitsch, M. Uhl, J. Maciaczyk, S. Grau, O. Schnell, M. Hanel, D. Krex, P. Vajkoczy, R. Gerlach, R.D. Kortmann, M. Mehdorn, J. Tutenberg, R. Mayer-Steinacker, R. Fietkau, S. Brehmer, F. Mack, M. Stuplich, S. Kebir, R. Kohnen, E. Dunkl, B. Leutgeb, M. Proescholdt, T. Pietsch, H. Urbach, C. Belka, W. Stummer, and M. Glas, *Bevacizumab Plus Irinotecan Versus Temozolomide in Newly Diagnosed O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Nonmethylated Glioblastoma: The Randomized GLARIUS Trial*. J Clin Oncol, 2016. 34(14): p. 1611-9.
2. Brown, C.E., D. Alizadeh, R. Starr, L. Weng, J.R. Wagner, A. Naranjo, J.R. Ostberg, M.S. Blanchard, J. Kilpatrick, J. Simpson, A. Kurien, S.J. Priceman, X. Wang, T.L. Harshbarger, M. D'Apuzzo, J.A. Ressler, M.C. Jensen, M.E. Barish, M. Chen, J. Portnow, S.J. Forman, and B. Badie, *Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy*. N Engl J Med, 2016. 375(26): p. 2561-9.
3. Lim, M., Y. Xia, C. Bettgowda, and M. Weller, *Current state of immunotherapy for glioblastoma*. Nat Rev Clin Oncol, 2018.
4. Bronisz, A. and E.A. Chiocca, *A cross-talk network that facilitates tumor virotherapy*. Nat Med, 2015. 21(5): p. 426-7.
5. Lawler, S.E., M.C. Speranza, C.F. Cho, and E.A. Chiocca, *Oncolytic Viruses in Cancer Treatment: A Review*. JAMA Oncol, 2017. 3(6): p. 841-849.
6. Lawler, S.E. and E.A. Chiocca, *Oncolytic Virus-Mediated Immunotherapy: A Combinatorial Approach for Cancer Treatment*. J Clin Oncol, 2015. 33(25): p. 2812-4.
7. Albert, N.L., M. Weller, B. Suchorska, N. Galldiks, R. Soffietti, M.M. Kim, C. la Fougere, W. Pope, I. Law, J. Arbizu, M.C. Chamberlain, M. Vogelbaum, B.M. Ellingson, and J.C. Tonn, *Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas*. Neuro Oncol, 2016. 18(9): p. 1199-208.
8. Watts, C. and K.J. Langen, *PET imaging in glioma: is it time for mainstream practice?* Neuro Oncol, 2016. 18(9): p. 1193-4.
9. Ostrom, Q.T., H. Gittleman, P. Liao, T. Vecchione-Koval, Y. Wolinsky, C. Kruchko, and J.S. Barnholtz-Sloan, *CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014*. Neuro Oncol, 2017. 19(suppl_5): p. v1-v88.
10. Iwamoto, F.M., A.R. Cooper, A.S. Reiner, L. Nayak, and L.E. Abrey, *Glioblastoma in the elderly: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center Experience (1997-2007)*. Cancer, 2009. 115(16): p. 3758-66.

11. Armstrong, T.S., A.M. Bishof, P.D. Brown, M. Klein, M.J. Taphoorn, and C. Theodore-Oklot, *Determining priority signs and symptoms for use as clinical outcomes assessments in trials including patients with malignant gliomas: Panel 1 Report*. Neuro Oncol, 2016. 18 Suppl 2: p. ii1-ii12.
12. Russell, B., A. Collins, M. Dally, A. Dowling, M. Gold, M. Murphy, and J. Philip, *Living longer with adult high-grade glioma: setting a research agenda for patients and their caregivers*. J Neurooncol, 2014. 120(1): p. 1-10.
13. Verger, E., M. Salameo, and C. Conill, *Can Karnofsky performance status be transformed to the Eastern Cooperative Oncology Group scoring scale and vice versa?* Eur J Cancer, 1992. 28a(8-9): p. 1328-30.
14. Perry, A. and P. Wesseling, *Histologic classification of gliomas*. Handb Clin Neurol, 2016. 134: p. 71-95.
15. Verhaak, R.G., K.A. Hoadley, E. Purdom, V. Wang, Y. Qi, M.D. Wilkerson, C.R. Miller, L. Ding, T. Golub, J.P. Mesirov, G. Alexe, M. Lawrence, M. O'Kelly, P. Tamayo, B.A. Weir, S. Gabriel, W. Winckler, S. Gupta, L. Jakkula, H.S. Feiler, J.G. Hodgson, C.D. James, J.N. Sarkaria, C. Brennan, A. Kahn, P.T. Spellman, R.K. Wilson, T.P. Speed, J.W. Gray, M. Meyerson, G. Getz, C.M. Perou, and D.N. Hayes, *Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1*. Cancer Cell, 2010. 17(1): p. 98-110.
16. Aldape, K., G. Zadeh, S. Mansouri, G. Reifenberger, and A. von Deimling, *Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers*. Acta Neuropathol, 2015. 129(6): p. 829-48.
17. van den Bent, M.J., M. Smits, J.M. Kros, and S.M. Chang, *Diffuse Infiltrating Oligodendroglioma and Astrocytoma*. J Clin Oncol, 2017. 35(21): p. 2394-2401.
18. Capper, D., D.T.W. Jones, M. Sill, V. Hovestadt, D. Schrimpf, D. Sturm, C. Koelsche, F. Sahm, L. Chavez, D.E. Reuss, A. Kratz, A.K. Wefers, K. Huang, K.W. Pajtler, L. Schweizer, D. Stichel, A. Olar, N.W. Engel, K. Lindenberg, P.N. Harter, A.K. Braczynski, K.H. Plate, H. Dohmen, B.K. Garvalov, R. Coras, A. Holsken, E. Hewer, M. Bewerunge-Hudler, M. Schick, R. Fischer, R. Beschorner, J. Schittenhelm, O. Staszewski, K. Wani, P. Varlet, M. Pages, P. Temming, D. Lohmann, F. Selt, H. Witt, T. Milde, O. Witt, E. Aronica, F. Giangaspero, E. Rushing, W. Scheurlen, C. Geisenberger, F.J. Rodriguez, A. Becker, M. Preusser, C. Haberler, R. Bjerkvig, J. Cryan, M. Farrell, M. Deckert, J. Hench, S. Frank, J. Serrano, K. Kannan, A. Tsirigos, W. Bruck, S. Hofer, S. Brehmer, M. Seiz-Rosenhagen, D. Hanggi, V. Hans, S. Rozsnoki, J.R. Hansford, P. Kohlhof, B.W. Kristensen, M. Lechner, B. Lopes, C. Mawrin, R. Ketter, A. Kulozik, Z. Khatib, F. Heppner, A. Koch, A. Jouvett, C. Keohane, H. Muhleisen, W. Mueller, U. Pohl, M. Prinz, A. Benner, M. Zapatka, N.G. Gottardo, P.H. Driever, C.M. Kramm, H.L. Muller, S. Rutkowski, K. von Hoff, M.C. Fruhwald, A. Gnekow, G. Fleischhack, S. Tippelt, G. Calaminus, C.M. Monoranu, A. Perry, C. Jones, T.S. Jacques, B. Radlwimmer, M. Gessi, T. Pietsch, J. Schramm, G. Schackert, M. Westphal, G. Reifenberger, P. Wesseling, M. Weller, V.P. Collins, I. Blumcke, M. Bendszus, J. Debus, A. Huang, N. Jabado, P.A.

- Northcott, W. Paulus, A. Gajjar, G.W. Robinson, M.D. Taylor, Z. Jaunmuktane, M. Ryzhova, M. Platten, A. Unterberg, W. Wick, M.A. Karajannis, M. Mittelbronn, T. Acker, C. Hartmann, K. Aldape, U. Schuller, R. Buslei, P. Lichter, M. Kool, C. Herold-Mende, D.W. Ellison, M. Hasselblatt, M. Snuderl, S. Brandner, A. Korshunov, A. von Deimling and S.M. Pfister, *DNA methylation-based classification of central nervous system tumours*. Nature, 2018. 555(7697): p. 469-474.
19. Shirahata, M., T. Ono, D. Stichel, D. Schrimpf, D.E. Reuss, F. Sahm, C. Koelsche, A. Wefers, A. Reinhardt, K. Huang, P. Sievers, H. Shimizu, H. Nanjo, Y. Kobayashi, Y. Miyake, T. Suzuki, J.I. Adachi, K. Mishima, A. Sasaki, R. Nishikawa, M. Bewerunge-Hudler, M. Ryzhova, O. Absalyamova, A. Golanov, P. Sinn, M. Platten, C. Jungk, F. Winkler, A. Wick, D. Hanggi, A. Unterberg, S.M. Pfister, D.T.W. Jones, M. van den Bent, M. Hegi, P. French, B.G. Baumert, R. Stupp, T. Gorlia, M. Weller, D. Capper, A. Korshunov, C. Herold-Mende, W. Wick, D.N. Louis, and A. von Deimling, *Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocytic gliomas*. Acta Neuropathol, 2018.
20. Wen, P.Y., S.M. Chang, M.J. Van den Bent, M.A. Vogelbaum, D.R. Macdonald, and E.Q. Lee, *Response Assessment in Neuro-Oncology Clinical Trials*. J Clin Oncol, 2017. 35(21): p. 2439-2449.
21. Langen, K.J., N. Galldiks, E. Hattingen, and N.J. Shah, *Advances in neuro-oncology imaging*. Nat Rev Neurol, 2017. 13(5): p. 279-289.
22. Louis, D.N., A. Perry, G. Reifenberger, A. von Deimling, D. Figarella-Branger, W.K. Cavenee, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, P. Kleihues, and D.W. Ellison, *The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary*. Acta Neuropathol, 2016. 131(6): p. 803-20.
23. Tonn, J.-C., *Vorwort, in Hirntumoren und spinale Tumoren. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Tumorzentrum München*, J.-C. Tonn, Editor. 2016, Tumorzentrum München und W. Zuckschwerdt Verlag München. p. V.
24. Louis, D.N., P. Wesseling, W. Paulus, C. Giannini, T.T. Batchelor, J.G. Cairncross, D. Capper, D. Figarella-Branger, M.B. Lopes, W. Wick, and M. van den Bent, *cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC)*. Acta Neuropathol, 2018. 135(3): p. 481-484.
25. Nayak, L., L.M. DeAngelis, A.A. Brandes, D.M. Peereboom, E. Galanis, N.U. Lin, R. Soffietti, D.R. Macdonald, M. Chamberlain, J. Perry, K. Jaeckle, M. Mehta, R. Stupp, A. Muzikansky, E. Pentsova, T. Cloughesy, F.M. Iwamoto, J.C. Tonn, M.A. Vogelbaum, P.Y. Wen, M.J. van den Bent, and D.A. Reardon, *The Neurologic Assessment in Neuro-Oncology (NANO) scale: a tool to assess neurologic function for integration into the Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) criteria*. Neuro Oncol, 2017. 19(5): p. 625-635.
26. Dirven, L., T.S. Armstrong, J.O. Blakeley, P.D. Brown, R. Grant, R. Jalali, H. Leeper, T. Mendoza, L. Nayak, J.C. Reijneveld, E. Le Rhun, T. Walbert, M. Weller, P.Y. Wen, and M.J.B. Taphoorn, *Working plan for the use of patient-reported outcome measures in adults with brain*

tumours: a Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) initiative. Lancet Oncol, 2018. 19(3): p. e173-e180.

27. Suchorska, B., M. Weller, G. Tabatabai, C. Senft, P. Hau, M.C. Sabel, U. Herrlinger, R. Ketter, U. Schlegel, C. Marosi, G. Reifenberger, W. Wick, J.C. Tonn, and H.G. Wirsching, *Complete resection of contrast-enhancing tumor volume is associated with improved survival in recurrent glioblastoma-results from the DIRECTOR trial*. Neuro Oncol, 2016. 18(4): p. 549-56.

28. Weller, M., M. van den Bent, J.C. Tonn, R. Stupp, M. Preusser, E. Cohen-Jonathan-Moyal, R. Henriksson, E. Le Rhun, C. Balana, O. Chinot, M. Bendszus, J.C. Reijneveld, F. Dhermain, P. French, C. Marosi, C. Watts, I. Oberg, G. Pilkington, B.G. Baumert, M.J.B. Taphoorn, M. Hegi, M. Westphal, G. Reifenberger, R. Soffietti, and W. Wick, *European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas*. Lancet Oncol, 2017. 18(6): p. e315-e329.

29. Hegi, M.E., A.C. Diserens, T. Gorlia, M.F. Hamou, N. de Tribolet, M. Weller, J.M. Kros, J.A. Hainfellner, W. Mason, L. Mariani, J.E. Bromberg, P. Hau, R.O. Mirimanoff, J.G. Cairncross, R.C. Janzer, and R. Stupp, *MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma*. N Engl J Med, 2005. 352(10): p. 997-1003.

30. van den Bent, M.J., B. Baumert, S.C. Erridge, M.A. Vogelbaum, A.K. Nowak, M. Sanson, A.A. Brandes, P.M. Clement, J.F. Baurain, W.P. Mason, H. Wheeler, O.L. Chinot, S. Gill, M. Griffin, D.G. Brachman, W. Taal, R. Ruda, M. Weller, C. McBain, J. Reijneveld, R.H. Enting, D.C. Weber, T. Lesimple, S. Clenton, A. Gijtenbeek, S. Pascoe, U. Herrlinger, P. Hau, F. Dhermain, I. van Heuvel, R. Stupp, K. Aldape, R.B. Jenkins, H.J. Dubbink, W.N.M. Dinjens, P. Wesseling, S. Nuyens, V. Golfopoulos, T. Gorlia, W. Wick, and J.M. Kros, *Interim results from the CATNON trial (EORTC study 26053-22054) of treatment with concurrent and adjuvant temozolomide for 1p/19q non-co-deleted anaplastic glioma: a phase 3, randomised, open-label intergroup study*. Lancet, 2017. 390(10103): p. 1645-1653.

31. Stupp, R., W.P. Mason, M.J. van den Bent, M. Weller, B. Fisher, M.J. Taphoorn, K. Belanger, A.A. Brandes, C. Marosi, U. Bogdahn, J. Curschmann, R.C. Janzer, S.K. Ludwin, T. Gorlia, A. Allgeier, D. Lacombe, J.G. Cairncross, E. Eisenhauer, and R.O. Mirimanoff, *Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma*. N Engl J Med, 2005. 352(10): p. 987-96.

32. Malmstrom, A., B.H. Gronberg, C. Marosi, R. Stupp, D. Frappaz, H. Schultz, U. Abacioglu, B. Tavelin, B. Lhermitte, M.E. Hegi, J. Rosell, and R. Henriksson, *Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2012. 13(9): p. 916-26.

33. Perry, J.R., N. Laperriere, C.J. O'Callaghan, A.A. Brandes, J. Menten, C. Phillips, M. Fay, R. Nishikawa, J.G. Cairncross, W. Roa, D. Osoba, J.P. Rossiter, A. Sahgal, H. Hirte, F. Laigle-Donadey, E. Franceschi, O. Chinot, V. Golfopoulos, L. Fariselli, A. Wick, L. Feuvret, M. Back, M. Tills, C.

- Winch, B.G. Baumert, W. Wick, K. Ding, and W.P. Mason, *Short-Course Radiation plus Temozolomide in Elderly Patients with Glioblastoma*. N Engl J Med, 2017. 376(11): p. 1027-1037.
34. Wick, W., M. Platten, C. Meisner, J. Felsberg, G. Tabatabai, M. Simon, G. Nikkhah, K. Papsdorf, J.P. Steinbach, M. Sabel, S.E. Combs, J. Vesper, C. Braun, J. Meixensberger, R. Ketter, R. Mayer-Steinacker, G. Reifenberger, and M. Weller, *Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2012. 13(7): p. 707-15.
35. Keime-Guibert, F., O. Chinot, L. Taillandier, S. Cartalat-Carel, M. Frenay, G. Kantor, J.S. Guillemo, E. Jadaud, P. Colin, P.Y. Bondiau, P. Menei, H. Loiseau, V. Bernier, J. Honnorat, M. Barrie, K. Mokhtari, J.J. Mazon, A. Bissery, and J.Y. Delattre, *Radiotherapy for glioblastoma in the elderly*. N Engl J Med, 2007. 356(15): p. 1527-35.
36. Roa, W., P.M. Brasher, G. Bauman, M. Anthes, E. Bruera, A. Chan, B. Fisher, D. Fulton, S. Gulavita, C. Hao, S. Husain, A. Murtha, K. Petruk, D. Stewart, P. Tai, R. Urtasun, J.G. Cairncross, and P. Forsyth, *Abbreviated course of radiation therapy in older patients with glioblastoma multiforme: a prospective randomized clinical trial*. J Clin Oncol, 2004. 22(9): p. 1583-8.
37. Schafer, N., M. Proescholdt, J.P. Steinbach, A. Weyerbrock, P. Hau, O. Grauer, R. Goldbrunner, F. Friedrich, V. Rohde, F. Ringel, U. Schlegel, M. Sabel, M.W. Ronellenfitsch, M. Uhl, S. Grau, M. Hanel, O. Schnell, D. Krex, P. Vajkoczy, G. Tabatabai, F. Mack, C. Schaub, T. Tzaridis, M. Niessen, S. Kebir, B. Leutgeb, H. Urbach, C. Belka, W. Stummer, M. Glas, and U. Herrlinger, *Quality of life in the GLARIUS trial randomizing bevacizumab/irinotecan versus temozolomide in newly diagnosed, MGMT-nonmethylated glioblastoma*. Neuro Oncol, 2017.
38. Wick, W., T. Gorlia, M. Bendszus, M. Taphoorn, F. Sahm, I. Harting, A.A. Brandes, W. Taal, J. Domont, A. Idbaih, M. Campone, P.M. Clement, R. Stupp, M. Fabbro, E. Le Rhun, F. Dubois, M. Weller, A. von Deimling, V. Golfinopoulos, J.C. Bromberg, M. Platten, M. Klein, and M.J. van den Bent, *Lomustine and Bevacizumab in Progressive Glioblastoma*. N Engl J Med, 2017. 377(20): p. 1954-1963.
39. Wirsching, H.G., G. Tabatabai, U. Roelcke, A.F. Hottinger, F. Jorger, A. Schmid, L. Plasswilm, D. Schrimpf, C. Mancao, D. Capper, K. Conen, T. Hundsberger, F. Caparrotti, R. von Moos, C. Riklin, J. Felsberg, P. Roth, D.T.W. Jones, S. Pfister, E.J. Rushing, L. Abrey, G. Reifenberger, L. Held, A. von Deimling, A. Ochsenbein, and M. Weller, *Bevacizumab plus hypofractionated radiotherapy versus radiotherapy alone in elderly patients with glioblastoma: the randomized, open-label, phase II ARTE trial*. Ann Oncol, 2018.
40. Malkki, H., *Neuro-oncology: Bevacizumab prolongs progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed glioblastoma*. Nat Rev Neurol, 2014. 10(4): p. 179.

41. Wick, A., T. Kessler, A.E.H. Elia, F. Winkler, T.T. Batchelor, M. Platten, and W. Wick, *Glioblastoma in elderly patients: solid conclusions built on shifting sand?* *Neuro Oncol*, 2018. 20(2): p. 174-183.
42. Pace, A., L. Dirven, J.A.F. Koekkoek, H. Golla, J. Fleming, R. Ruda, C. Marosi, E. Le Rhun, R. Grant, K. Oliver, I. Oberg, H.J. Bulbeck, A.G. Rooney, R. Henriksson, H.R.W. Pasman, S. Oberndorfer, M. Weller, and M.J.B. Taphoorn, *European Association for Neuro-Oncology (EANO) guidelines for palliative care in adults with glioma*. *Lancet Oncol*, 2017. 18(6): p. e330-e340.
43. Krex, D., B. Klink, C. Hartmann, A. von Deimling, T. Pietsch, M. Simon, M. Sabel, J.P. Steinbach, O. Heese, G. Reifenberger, M. Weller, and G. Schackert, *Long-term survival with glioblastoma multiforme*. *Brain*, 2007. 130(Pt 10): p. 2596-606.
44. Herrlinger, U., *Aktuelle Strategien der Chemotherapie bei Gliomen*, in *69. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie (DGNC)*. 2018: Münster.
45. Herrlinger, U., T. Tzaridis, F. Mack, J. Steinbach, U. Schlegel, M. Sabel, P. Hau, R.-D. Kortman, D. Krex, O. Grauer, R. Goldbrunner, O. Schnell, O. Baehr, M. Uhl, G. Tabatabai, F. Ringel, F. Schmidt-Graf, S. Brehmer, A. Weyerbrock, L. Bullinger, P. Vajkoczy, H. Vatter, N. Schäfer, S. Kebir, J. Weller, W. Stummer, M. Simon, V. Keil, M. Nelles, R. Fimmers, T. Pietsch, E. Hattingen, C. Coch, and M. Glas, *ACTR-58. Phase III trial of CCNU/temozolomide (TMZ) combination therapy vs. standard TMZ therapy for newly diagnosed MGMT-methylated glioblastoma patients: the CeTeg/NOA-09 trial*. *Neuro-Oncology*, 2017. 19(suppl_6): p. vi13-vi14.
46. Tamimi, A.F. and M. Juweid, *Epidemiology and Outcome of Glioblastoma*, in *Glioblastoma*, S. De Vleeschouwer, Editor. 2017, Codon Publications. Copyright: The Authors.: Brisbane (AU).
47. Thon, N., J. Thorsteinsdottir, S. Eigenbrod, U. Schuller, J. Lutz, S. Kreth, C. Belka, J.C. Tonn, M. Niyazi, and F.W. Kreth, *Outcome in unresectable glioblastoma: MGMT promoter methylation makes the difference*. *J Neurol*, 2017. 264(2): p. 350-358.
48. Brennan, C.W., R.G. Verhaak, A. McKenna, B. Campos, H. Noushmehr, S.R. Salama, S. Zheng, D. Chakravarty, J.Z. Sanborn, S.H. Berman, R. Beroukhim, B. Bernard, C.J. Wu, G. Genovese, I. Shmulevich, J. Barnholtz-Sloan, L. Zou, R. Vegesna, S.A. Shukla, G. Ciriello, W.K. Yung, W. Zhang, C. Sougnez, T. Mikkelsen, K. Aldape, D.D. Bigner, E.G. Van Meir, M. Prados, A. Sloan, K.L. Black, J. Eschbacher, G. Finocchiaro, W. Friedman, D.W. Andrews, A. Guha, M. Iacocca, B.P. O'Neill, G. Foltz, J. Myers, D.J. Weisenberger, R. Penny, R. Kucherlapati, C.M. Perou, D.N. Hayes, R. Gibbs, M. Marra, G.B. Mills, E. Lander, P. Spellman, R. Wilson, C. Sander, J. Weinstein, M. Meyerson, S. Gabriel, P.W. Laird, D. Haussler, G. Getz, and L. Chin, *The somatic genomic landscape of glioblastoma*. *Cell*, 2013. 155(2): p. 462-77.
49. Kijima, N. and Y. Kanemura, *Mouse Models of Glioblastoma*, in *Glioblastoma*, S. De Vleeschouwer, Editor. 2017, Codon Publications Copyright: The Authors.: Brisbane (AU).

50. Miyai, M., H. Tomita, A. Soeda, H. Yano, T. Iwama, and A. Hara, *Current trends in mouse models of glioblastoma*. J Neurooncol, 2017. 135(3): p. 423-432.
51. Ilkow, C.S., M. Marguerie, C. Batenchuk, J. Mayer, D. Ben Neriah, S. Cousineau, T. Falls, V.A. Jennings, M. Boileau, D. Bellamy, D. Bastin, C.T. de Souza, A. Alkayyal, J. Zhang, F. Le Boeuf, R. Arulanandam, L. Stubbett, P. Sampath, S.H. Thorne, P. Paramanthan, A. Chatterjee, R.M. Strieter, M. Burdick, C.L. Addison, D.F. Stojdl, H.L. Atkins, R.C. Auer, J.S. Diallo, B.D. Lichty, and J.C. Bell, *Reciprocal cellular cross-talk within the tumor microenvironment promotes oncolytic virus activity*. Nat Med, 2015. 21(5): p. 530-6.
52. *Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways*. Nature, 2008. 455(7216): p. 1061-8.
53. Jin, X., L.J.Y. Kim, Q. Wu, L.C. Wallace, B.C. Prager, T. Sanvoranart, R.C. Gimple, X. Wang, S.C. Mack, T.E. Miller, P. Huang, C.L. Valentim, Q.G. Zhou, J.S. Barnholtz-Sloan, S. Bao, A.E. Sloan, and J.N. Rich, *Targeting glioma stem cells through combined BMI1 and EZH2 inhibition*. Nat Med, 2017. 23(11): p. 1352-1361.
54. Oh, T., S. Fakurnejad, E.T. Sayegh, A.J. Clark, M.E. Ivan, M.Z. Sun, M. Safaee, O. Bloch, C.D. James, and A.T. Parsa, *Immunocompetent murine models for the study of glioblastoma immunotherapy*. J Transl Med, 2014. 12: p. 107.
55. Huszthy, P.C., I. Daphu, S.P. Niclou, D. Stieber, J.M. Nigro, P.O. Sakariassen, H. Miletic, F. Thorsen, and R. Bjerkvig, *In vivo models of primary brain tumors: pitfalls and perspectives*. Neuro Oncol, 2012. 14(8): p. 979-93.
56. Martens, T., Y. Laabs, H.S. Gunther, D. Kemming, Z. Zhu, L. Witte, C. Hagel, M. Westphal, and K. Lamszus, *Inhibition of glioblastoma growth in a highly invasive nude mouse model can be achieved by targeting epidermal growth factor receptor but not vascular endothelial growth factor receptor-2*. Clin Cancer Res, 2008. 14(17): p. 5447-58.
57. Mahesparan, R., T.A. Read, M. Lund-Johansen, K.O. Skaftnesmo, R. Bjerkvig, and O. Engebraaten, *Expression of extracellular matrix components in a highly infiltrative in vivo glioma model*. Acta Neuropathol, 2003. 105(1): p. 49-57.
58. Allen, M., M. Bjerke, H. Edlund, S. Nelander, and B. Westermark, *Origin of the U87MG glioma cell line: Good news and bad news*. Sci Transl Med, 2016. 8(354): p. 354re3.
59. Glass, R., G. Mastrella, M. Hou, V. Stöcklein, H. Miletic, C. Herold-Mende, M. Synowitz, A. Vescovi, R. Bjerkvig, U. Schüller, J.-C. Tonn, and R. Kaelin, *ANGI-02. Inhibition of APLN-APLNR signalling blocks tumour angiogenesis and attenuates invasive glioblastoma growth*. Neuro Oncol, 2017. 19(suppl_6): p. vi21-vi22.
60. Jones, T. and D. Townsend, *History and future technical innovation in positron emission tomography*. J Med Imaging (Bellingham), 2017. 4(1): p. 011013.

61. Phelps, M.E., E.J. Hoffman, N.A. Mullani, and M.M. Ter-Pogossian, *Application of annihilation coincidence detection to transaxial reconstruction tomography*. J Nucl Med, 1975. 16(3): p. 210-24.
62. Strauss, H.W., B. Zaret, P. Pieri, and A. Lahiri, *George De Hevesy, Recipient of the 1943 Nobel Prize for Chemistry*. J Nucl Cardiol, 2017. 24(6): p. 1848-1849.
63. Herzog, H., *Methods and applications of positron-based medical imaging*. Radiation Physics and Chemistry, 2007. 76(2): p. 337-342.
64. Batra, S., K.U. Adekola, S.T. Rosen, and M. Shanmugam, *Cancer metabolism as a therapeutic target*. Oncology (Williston Park), 2013. 27(5): p. 460-7.
65. Warburg, O., *On the origin of cancer cells*. Science, 1956. 123(3191): p. 309-14.
66. Cherry, S.R. and M. Dahlbom, *PET: Physics, Instrumentation, and Scanners*, in *PET: Physics, Instrumentation, and Scanners*, M.E. Phelps, Editor. 2006, Springer New York: New York, NY. p. 1-117.
67. Humm, J.L., A. Rosenfeld, and A. Del Guerra, *From PET detectors to PET scanners*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2003. 30(11): p. 1574-97.
68. Neumaier, B., *Prinzipien der Nuklearmedizin*, in *Nuklearmedizin: Basiswissen und klinische Anwendung*, M. Dietlein, K. Kopka, and M. Schmidt, Editors. 2017, Schattauer GmbH. p. 3-15.
69. da Silva, N.A., P. Lohmann, J. Fairney, A.W. Magill, A.M. Oros Peusquens, C.H. Choi, R. Stirnberg, G. Stoffels, N. Galldiks, X. Golay, K.J. Langen, and N. Jon Shah, *Hybrid MR-PET of brain tumours using amino acid PET and chemical exchange saturation transfer MRI*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2018.
70. Kosslyn, S.M., A. Pascual-Leone, O. Felician, S. Camposano, J.P. Keenan, W.L. Thompson, G. Ganis, K.E. Sukel, and N.M. Alpert, *The role of area 17 in visual imagery: convergent evidence from PET and rTMS*. Science, 1999. 284(5411): p. 167-70.
71. Schneider, S.M., V. Sridhar, A.K. Bettis, H. Heath-Barnett, C.J. Balog-Alvarez, L.J. Guo, R. Johnson, S. Jaques, S. Vitha, A.C. Glowcwski, J.N. Kornegay, and P.P. Nghiem, *Glucose Metabolism as a Pre-clinical Biomarker for the Golden Retriever Model of Duchenne Muscular Dystrophy*. Mol Imaging Biol, 2018.
72. Villadsen, J., H.D. Hansen, L.M. Jorgensen, S.H. Keller, F.L. Andersen, I.N. Petersen, G.M. Knudsen, and C. Svarer, *Automatic delineation of brain regions on MRI and PET images from the pig*. J Neurosci Methods, 2018. 294: p. 51-58.
73. Cavo, M., E. Terpos, C. Nanni, P. Moreau, S. Lentzsch, S. Zweegman, J. Hillengass, M. Engelhardt, S.Z. Usmani, D.H. Vesole, J. San-Miguel, S.K. Kumar, P.G. Richardson, J.R. Mikhael, F.L. da Costa, M.A. Dimopoulos, C. Zingaretti, N. Abildgaard, H. Goldschmidt, R.Z. Orlowski, W.J. Chng, H. Einsele, S. Lonial, B. Barlogie, K.C. Anderson, S.V. Rajkumar, B.G.M. Durie, and E. Zamagni, *Role*

of (18)F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol*, 2017. 18(4): p. e206-e217.

74. O'Connor, J.P., E.O. Aboagye, J.E. Adams, H.J. Aerts, S.F. Barrington, A.J. Beer, R. Boellaard, S.E. Bohndiek, M. Brady, G. Brown, D.L. Buckley, T.L. Chenevert, L.P. Clarke, S. Collette, G.J. Cook, N.M. deSouza, J.C. Dickson, C. Dive, J.L. Evelhoch, C. Faivre-Finn, F.A. Gallagher, F.J. Gilbert, R.J. Gillies, V. Goh, J.R. Griffiths, A.M. Groves, S. Halligan, A.L. Harris, D.J. Hawkes, O.S. Hoekstra, E.P. Huang, B.F. Hutton, E.F. Jackson, G.C. Jayson, A. Jones, D.M. Koh, D. Lacombe, P. Lambin, N. Lassau, M.O. Leach, T.Y. Lee, E.L. Leen, J.S. Lewis, Y. Liu, M.F. Lythgoe, P. Manoharan, R.J. Maxwell, K.A. Miles, B. Morgan, S. Morris, T. Ng, A.R. Padhani, G.J. Parker, M. Partridge, A.P. Pathak, A.C. Peet, S. Punwani, A.R. Reynolds, S.P. Robinson, L.K. Shankar, R.A. Sharma, D. Soloviev, S. Stroobants, D.C. Sullivan, S.A. Taylor, P.S. Tofts, G.M. Tozer, M. van Herk, S. Walker-Samuel, J. Wason, K.J. Williams, P. Workman, T.E. Yankeelov, K.M. Brindle, L.M. McShane, A. Jackson, and J.C. Waterton, *Imaging biomarker roadmap for cancer studies*. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017. 14(3): p. 169-186.

75. Mink, J.W., R.J. Blumenschine, and D.B. Adams, *Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis*. *Am J Physiol*, 1981. 241(3): p. R203-12.

76. Yamashita, K., T. Yoshiura, A. Hiwatashi, O. Togao, K. Yoshimoto, S.O. Suzuki, K. Abe, K. Kikuchi, Y. Maruoka, M. Mizoguchi, T. Iwaki, and H. Honda, *Differentiating primary CNS lymphoma from glioblastoma multiforme: assessment using arterial spin labeling, diffusion-weighted imaging, and (1)(8)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography*. *Neuroradiology*, 2013. 55(2): p. 135-43.

77. Omuro, A.M., C.C. Leite, K. Mokhtari, and J.Y. Delattre, *Pitfalls in the diagnosis of brain tumours*. *Lancet Neurol*, 2006. 5(11): p. 937-48.

78. Tralins, K.S., J.G. Douglas, K.J. Stelzer, D.A. Mankoff, D.L. Silbergeld, R.C. Rostomily, S. Hummel, J. Scharnhorst, K.A. Krohn, and A.M. Spence, *Volumetric analysis of 18F-FDG PET in glioblastoma multiforme: prognostic information and possible role in definition of target volumes in radiation dose escalation*. *J Nucl Med*, 2002. 43(12): p. 1667-73.

79. Prieto, E., J.M. Marti-Clement, I. Dominguez-Prado, P. Garrastachu, R. Diez-Valle, S. Tejada, J.J. Aristu, I. Penuelas, and J. Arbizu, *Voxel-based analysis of dual-time-point 18F-FDG PET images for brain tumor identification and delineation*. *J Nucl Med*, 2011. 52(6): p. 865-72.

80. Choudhary, G., K.J. Langen, N. Galldiks, and J. McConathy, *Investigational PET tracers for high grade gliomas*. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2018.

81. Albert, N.L., M. Unterrainer, D.F. Fleischmann, S. Lindner, F. Vettermann, A. Brunegraf, L. Vomacka, M. Brendel, V. Wenter, C. Wetzel, R. Rupprecht, J.C. Tonn, C. Belka, P. Bartenstein, and M. Niyazi, *TSPO PET for glioma imaging using the novel ligand (18)F-GE-180: first results in patients with glioblastoma*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2017. 44(13): p. 2230-2238.

82. Galldiks, N., N.L. Albert, M. Sommerauer, A.L. Grosu, U. Ganswindt, I. Law, M. Preusser, E. Le Rhun, M.A. Vogelbaum, G. Zadeh, F. Dhermain, M. Weller, K.J. Langen, and J.C. Tonn, *PET imaging in patients with meningioma-report of the RANO/PET Group*. Neuro Oncol, 2017. 19(12): p. 1576-1587.
83. Unterrainer, M., N. Galldiks, B. Suchorska, L.C. Kowalew, V. Wenter, C. Schmid-Tannwald, M. Niyazi, P. Bartenstein, K.J. Langen, and N.L. Albert, *(18)F-FET PET Uptake Characteristics in Patients with Newly Diagnosed and Untreated Brain Metastasis*. J Nucl Med, 2017. 58(4): p. 584-589.
84. Kunz, W.G., L.M. Jungblut, P.M. Kazmierczak, F.J. Vettermann, A. Bollenbacher, J.C. Tonn, C. Schichor, A. Rominger, N.L. Albert, P. Bartenstein, M.F. Reiser, and C.C. Cyran, *Improved Detection of Transosseous Meningiomas Using (68)Ga-DOTATATE PET/CT Compared with Contrast-Enhanced MRI*. J Nucl Med, 2017. 58(10): p. 1580-1587.
85. Floeth, F.W., *Diagnostische und prognostische Bedeutung der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) mit dem Aminosäure-Tracer Fluor-Ethyl-Tyrosin (FET) bei cerebralen Gliomen*, in *Neurochirurgische Klinik*. 2006, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. p. 30.
86. Wester, H.J., M. Herz, W. Weber, P. Heiss, R. Senekowitsch-Schmidtke, M. Schwaiger, and G. Stocklin, *Synthesis and radiopharmacology of O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine for tumor imaging*. J Nucl Med, 1999. 40(1): p. 205-12.
87. Habermeier, A., J. Graf, B.F. Sandhofer, J.P. Boissel, F. Roesch, and E.I. Closs, *System L amino acid transporter LAT1 accumulates O-(2-fluoroethyl)-L-tyrosine (FET)*. Amino Acids, 2015. 47(2): p. 335-44.
88. Langen, K.J., M. Jarosch, H. Muhlensiepen, K. Hamacher, S. Broer, P. Jansen, K. Zilles, and H.H. Coenen, *Comparison of fluorotyrosines and methionine uptake in F98 rat gliomas*. Nucl Med Biol, 2003. 30(5): p. 501-8.
89. Langen, K.J., P. Bartenstein, H. Boecker, P. Brust, H.H. Coenen, A. Drzezga, F. Grunwald, B.J. Krause, T. Kuwert, O. Sabri, K. Tatsch, W.A. Weber, and M. Schreckenberger, *[German guidelines for brain tumour imaging by PET and SPECT using labelled amino acids]*. Nuklearmedizin, 2011. 50(4): p. 167-73.
90. Rapp, M., A. Heinzl, N. Galldiks, G. Stoffels, J. Felsberg, C. Ewelt, M. Sabel, H.J. Steiger, G. Reifenberger, T. Beez, H.H. Coenen, F.W. Floeth, and K.J. Langen, *Diagnostic performance of 18F-FET PET in newly diagnosed cerebral lesions suggestive of glioma*. J Nucl Med, 2013. 54(2): p. 229-35.
91. Dunet, V., C. Rossier, A. Buck, R. Stupp, and J.O. Prior, *Performance of 18F-fluoro-ethyl-tyrosine (18F-FET) PET for the differential diagnosis of primary brain tumor: a systematic review and Metaanalysis*. J Nucl Med, 2012. 53(2): p. 207-14.

92. Jansen, N.L., V. Graute, L. Armbruster, B. Suchorska, J. Lutz, S. Eigenbrod, P. Cumming, P. Bartenstein, J.C. Tonn, F.W. Kreth, and C. la Fougere, *MRI-suspected low-grade glioma: is there a need to perform dynamic FET PET?* Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2012. 39(6): p. 1021-9.
93. Kunz, M., N. Thon, S. Eigenbrod, C. Hartmann, R. Egensperger, J. Herms, J. Geisler, C. la Fougere, J. Lutz, J. Linn, S. Kreth, A. von Deimling, J.C. Tonn, H.A. Kretschmar, G. Popperl, and F.W. Kreth, *Hot spots in dynamic (18)FET-PET delineate malignant tumor parts within suspected WHO grade II gliomas.* Neuro Oncol, 2011. 13(3): p. 307-16.
94. Verger, A., C.P. Filss, P. Lohmann, G. Stoffels, M. Sabel, H.J. Wittsack, E.R. Kops, N. Galldiks, G.R. Fink, N.J. Shah, and K.J. Langen, *Comparison of (18)F-FET PET and perfusion-weighted MRI for glioma grading: a hybrid PET/MR study.* Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2017. 44(13): p. 2257-2265.
95. Galldiks, N., G. Stoffels, C. Filss, M. Rapp, T. Blau, C. Tscherpel, G. Ceccon, V. Dunkl, M. Weinzierl, M. Stoffel, M. Sabel, G.R. Fink, N.J. Shah, and K.J. Langen, *The use of dynamic O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET in the diagnosis of patients with progressive and recurrent glioma.* Neuro Oncol, 2015. 17(9): p. 1293-300.
96. Galldiks, N., M. Kocher, and K.J. Langen, *Pseudoprogression after glioma therapy: an update.* Expert Rev Neurother, 2017. 17(11): p. 1109-1115.
97. Wyss, M., S. Hofer, M. Bruehlmeier, M. Hefti, C. Uhlmann, E. Bartschi, U.W. Buettner, and U. Roelcke, *Early metabolic responses in temozolomide treated low-grade glioma patients.* J Neurooncol, 2009. 95(1): p. 87-93.
98. Hutterer, M., M. Nowosielski, D. Putzer, D. Waitz, G. Tinkhauser, H. Kostron, A. Muigg, I.J. Virgolini, W. Staffen, E. Trinka, T. Gotwald, A.H. Jacobs, and G. Stockhammer, *O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET predicts failure of antiangiogenic treatment in patients with recurrent high-grade glioma.* J Nucl Med, 2011. 52(6): p. 856-64.
99. Jansen, N.L., B. Suchorska, S.B. Schwarz, S. Eigenbrod, J. Lutz, V. Graute, P. Bartenstein, C. Belka, F.W. Kreth, and C. la Fougere, *[18F]fluoroethyltyrosine-positron emission tomography-based therapy monitoring after stereotactic iodine-125 brachytherapy in patients with recurrent high-grade glioma.* Mol Imaging, 2013. 12(3): p. 137-47.
100. Suchorska, B., N.L. Jansen, J. Linn, H. Kretschmar, H. Janssen, S. Eigenbrod, M. Simon, G. Popperl, F.W. Kreth, C. la Fougere, M. Weller, and J.C. Tonn, *Biological tumor volume in 18FET-PET before radiochemotherapy correlates with survival in GBM.* Neurology, 2015. 84(7): p. 710-9.
101. Jansen, N.L., B. Suchorska, V. Wenter, C. Schmid-Tannwald, A. Todica, S. Eigenbrod, M. Niyazi, J.C. Tonn, P. Bartenstein, F.W. Kreth, and C. la Fougere, *Prognostic significance of dynamic 18F-FET PET in newly diagnosed astrocytic high-grade glioma.* J Nucl Med, 2015. 56(1): p. 9-15.

102. Unterrainer, M., F. Schweisthal, B. Suchorska, V. Wenter, C. Schmid-Tannwald, W.P. Fendler, U. Schuller, P. Bartenstein, J.C. Tonn, and N.L. Albert, *Serial 18F-FET PET Imaging of Primarily 18F-FET-Negative Glioma: Does It Make Sense?* J Nucl Med, 2016. 57(8): p. 1177-82.
103. Holzgreve, A., M. Unterrainer, F. Schweisthal, B. Suchorska, V. Wenter, C. Schmid-Tannwald, W.P. Fendler, U. Schüller, P. Bartenstein, J.C. Tonn, and N.L. Albert, *FET PET for Noninvasive Detection of Progression and Malignant Transformation in Primarily FET-negative Gliomas*, in *84th AANS Annual Scientific Meeting*. 2016: Chicago.
104. Hutterer, M., M. Nowosielski, D. Putzer, N.L. Jansen, M. Seiz, M. Schocke, M. McCoy, G. Gobel, C. la Fougere, I.J. Virgolini, E. Trink, A.H. Jacobs, and G. Stockhammer, *[18F]-fluoro-ethyl-L-tyrosine PET: a valuable diagnostic tool in neuro-oncology, but not all that glitters is glioma*. Neuro Oncol, 2013. 15(3): p. 341-51.
105. Szatmari, T., K. Lumniczky, S. Desaknai, S. Trajcevski, E.J. Hidvegi, H. Hamada, and G. Safrany, *Detailed characterization of the mouse glioma 261 tumor model for experimental glioblastoma therapy*. Cancer Sci, 2006. 97(6): p. 546-53.
106. Pombinho, A.R., V. Laize, D.M. Molha, S.M. Marques, and M.L. Cancela, *Development of two bone-derived cell lines from the marine teleost Sparus aurata; evidence for extracellular matrix mineralization and cell-type-specific expression of matrix Gla protein and osteocalcin*. Cell Tissue Res, 2004. 315(3): p. 393-406.
107. Rominger, A., M. Brendel, S. Burgold, K. Keppler, K. Baumann, G. Xiong, E. Mille, F.J. Gildehaus, J. Carlsen, J. Schlichtiger, S. Niedermoser, B. Wangler, P. Cumming, H. Steiner, J. Herms, C. Haass, and P. Bartenstein, *Longitudinal assessment of cerebral beta-amyloid deposition in mice overexpressing Swedish mutant beta-amyloid precursor protein using 18F-florbetaben PET*. J Nucl Med, 2013. 54(7): p. 1127-34.
108. Mille, E., P. Cumming, A. Rominger, C. La Fougere, K. Tatsch, B. Wangler, P. Bartenstein, and G. Boning, *Compensation for cranial spill-in into the cerebellum improves quantitation of striatal dopamine D(2)/(3) receptors in rats with prolonged [(1)(8)F]-DMFP infusions*. Synapse, 2012. 66(8): p. 705-13.
109. Beuthien-Baumann, B., *[Principles of PET]*. Radiologe, 2018. 58(5): p. 487-500.
110. Prakash, Y.S., K.G. Smithson, and G.C. Sieck, *Application of the Cavalieri principle in volume estimation using laser confocal microscopy*. Neuroimage, 1994. 1(4): p. 325-33.
111. Brendel, M., A. Delker, C. Rotzer, G. Boning, J. Carlsen, C. Cyran, E. Mille, F.J. Gildehaus, P. Cumming, K. Baumann, H. Steiner, C. Haass, J. Herms, P. Bartenstein, and A. Rominger, *Impact of partial volume effect correction on cerebral beta-amyloid imaging in APP-Swe mice using [(18)F]-florbetaben PET*. Neuroimage, 2014. 84: p. 843-53.

112. Rousset, O.G., D.L. Collins, A. Rahmim, and D.F. Wong, *Design and implementation of an automated partial volume correction in PET: application to dopamine receptor quantification in the normal human striatum*. J Nucl Med, 2008. 49(7): p. 1097-106.
113. Rousset, O.G., Y. Ma, and A.C. Evans, *Correction for partial volume effects in PET: principle and validation*. J Nucl Med, 1998. 39(5): p. 904-11.
114. Unterrainer, M., I. Winkelman, B. Suchorska, A. Giese, V. Wenter, F.W. Kreth, J. Herms, P. Bartenstein, J.C. Tonn, and N.L. Albert, *Biological tumour volumes of gliomas in early and standard 20-40 min (18)F-FET PET images differ according to IDH mutation status*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2018.
115. Ceccon, G., L. Lazaridis, G. Stoffels, M. Rapp, M. Weber, T. Blau, P. Lohmann, S. Kebir, K. Herrmann, G.R. Fink, K.J. Langen, M. Glas, and N. Galldiks, *Use of FET PET in glioblastoma patients undergoing neurooncological treatment including tumour-treating fields: initial experience*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2018.
116. Stock, K., J. Kumar, M. Synowitz, S. Petrosino, R. Imperatore, E.S. Smith, P. Wend, B. Purfurst, U.A. Nuber, U. Gurok, V. Matyash, J.H. Walzlein, S.R. Chirasani, G. Dittmar, B.F. Cravatt, S. Momma, G.R. Lewin, A. Ligresti, L. De Petrocellis, L. Cristino, V. Di Marzo, H. Kettenmann, and R. Glass, *Neural precursor cells induce cell death of high-grade astrocytomas through stimulation of TRPV1*. Nat Med, 2012. 18(8): p. 1232-8.
117. Speranza, M.C., C. Passaro, F. Ricklefs, K. Kasai, S.R. Klein, H. Nakashima, J.K. Kaufmann, A.K. Ahmed, M.O. Nowicki, P. Obi, A. Bronisz, E. Aguilar-Cordova, L.K. Aguilar, B.W. Guzik, X. Breakefield, R. Weissleder, G.J. Freeman, D.A. Reardon, P.Y. Wen, E.A. Chiocca, and S.E. Lawler, *Preclinical investigation of combined gene-mediated cytotoxic immunotherapy and immune checkpoint blockade in glioblastoma*. Neuro Oncol, 2018. 20(2): p. 225-235.
118. Teplyuk, N.M., E.J. Uhlmann, G. Gabriely, N. Volfovsky, Y. Wang, J. Teng, P. Karmali, E. Marcusson, M. Peter, A. Mohan, Y. Kravtsov, R. Cialic, E.A. Chiocca, J. Godlewski, B. Tannous, and A.M. Krichevsky, *Therapeutic potential of targeting microRNA-10b in established intracranial glioblastoma: first steps toward the clinic*. EMBO Mol Med, 2016. 8(3): p. 268-87.
119. Kloepper, J., L. Riedemann, Z. Amoozgar, G. Seano, K. Susek, V. Yu, N. Dalvie, R.L. Amelung, M. Datta, J.W. Song, V. Askoxylakis, J.W. Taylor, C. Lu-Emerson, A. Batista, N.D. Kirkpatrick, K. Jung, M. Snuderl, A. Muzikansky, K.G. Stubenrauch, O. Krieter, H. Wakimoto, L. Xu, L.L. Munn, D.G. Duda, D. Fukumura, T.T. Batchelor, and R.K. Jain, *Ang-2/VEGF bispecific antibody reprograms macrophages and resident microglia to anti-tumor phenotype and prolongs glioblastoma survival*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016. 113(16): p. 4476-81.
120. Moutal, A., L.S. Villa, S.K. Yeon, K.T. Householder, K.D. Park, R.W. Sirianni, and R. Khanna, *CRMP2 Phosphorylation Drives Glioblastoma Cell Proliferation*. Mol Neurobiol, 2018. 55(5): p. 4403-4416.

121. GuhaSarkar, D., J. Neiswender, Q. Su, G. Gao, and M. Sena-Esteves, *Intracranial AAV-IFN-beta gene therapy eliminates invasive xenograft glioblastoma and improves survival in orthotopic syngeneic murine model*. Mol Oncol, 2017. 11(2): p. 180-193.
122. Popperl, G., F.W. Kreth, J. Herms, W. Koch, J.H. Mehrkens, F.J. Gildehaus, H.A. Kretschmar, J.C. Tonn, and K. Tatsch, *Analysis of 18F-FET PET for grading of recurrent gliomas: is evaluation of uptake kinetics superior to standard methods?* J Nucl Med, 2006. 47(3): p. 393-403.
123. Albert, N.L., I. Winkelmann, B. Suchorska, V. Wenter, C. Schmid-Tannwald, E. Mille, A. Todica, M. Brendel, J.C. Tonn, P. Bartenstein, and C. la Fougere, *Early static (18)F-FET-PET scans have a higher accuracy for glioma grading than the standard 20-40 min scans*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2016. 43(6): p. 1105-14.
124. Langen, K.J. and N. Galldiks, *Reply to "[18F]-fluoro-ethyl-L-tyrosine PET: a valuable diagnostic tool in neuro-oncology, but not all that glitters is glioma" by Hutterer et al*. Neuro Oncol, 2013. 15(7): p. 816-7.
125. Nedergaard, M.K., S.R. Michaelsen, T. Urup, H. Broholm, H. El Ali, H.S. Poulsen, M.T. Stockhausen, A. Kjaer, and U. Lassen, *18F-FET microPET and microMRI for anti-VEGF and anti-PIGF response assessment in an orthotopic murine model of human glioblastoma*. PLoS One, 2015. 10(2): p. e0115315.
126. Nedergaard, M.K., K. Kristoffersen, S.R. Michaelsen, J. Madsen, H.S. Poulsen, M.T. Stockhausen, U. Lassen, and A. Kjaer, *The use of longitudinal 18F-FET MicroPET imaging to evaluate response to irinotecan in orthotopic human glioblastoma multiforme xenografts*. PLoS One, 2014. 9(2): p. e100009.
127. Galldiks, N., G. Stoffels, M.I. Ruge, M. Rapp, M. Sabel, G. Reifenberger, Z. Erdem, N.J. Shah, G.R. Fink, H.H. Coenen, and K.J. Langen, *Role of O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET as a diagnostic tool for detection of malignant progression in patients with low-grade glioma*. J Nucl Med, 2013. 54(12): p. 2046-54.
128. Visser, E.P., J.A. Disselhorst, M. Brom, P. Laverman, M. Gotthardt, W.J. Oyen, and O.C. Boerman, *Spatial resolution and sensitivity of the Inveon small-animal PET scanner*. J Nucl Med, 2009. 50(1): p. 139-47.
129. Jansen, N.L., C. Schwartz, V. Graute, S. Eigenbrod, J. Lutz, R. Egensperger, G. Popperl, H.A. Kretschmar, P. Cumming, P. Bartenstein, J.C. Tonn, F.W. Kreth, C. la Fougere, and N. Thon, *Prediction of oligodendroglial histology and LOH 1p/19q using dynamic [(18)F]FET-PET imaging in intracranial WHO grade II and III gliomas*. Neuro Oncol, 2012. 14(12): p. 1473-80.
130. Suchorska, B., N.L. Jansen, J. Linn, H. Kretschmar, H. Janssen, S. Eigenbrod, M. Simon, G. Popperl, F.W. Kreth, C. la Fougere, M. Weller, J.C. Tonn, and N. German Glioma, *Biological tumor volume in 18FET-PET before radiochemotherapy correlates with survival in GBM*. Neurology, 2015. 84(7): p. 710-9.

131. Ewelt, C., F.W. Floeth, J. Felsberg, H.J. Steiger, M. Sabel, K.J. Langen, G. Stoffels, and W. Stummer, *Finding the anaplastic focus in diffuse gliomas: the value of Gd-DTPA enhanced MRI, FET-PET, and intraoperative, ALA-derived tissue fluorescence*. Clin Neurol Neurosurg, 2011. 113(7): p. 541-7.
132. Niyazi, M., J. Geisler, A. Siefert, S.B. Schwarz, U. Ganswindt, S. Garny, O. Schnell, B. Suchorska, F.W. Kreth, J.C. Tonn, P. Bartenstein, C. la Fougere, and C. Belka, *FET-PET for malignant glioma treatment planning*. Radiother Oncol, 2011. 99(1): p. 44-8.
133. Galldiks, N., V. Dunkl, G. Stoffels, M. Hutterer, M. Rapp, M. Sabel, G. Reifenberger, S. Kebir, F. Dorn, T. Blau, U. Herrlinger, P. Hau, M.I. Ruge, M. Kocher, R. Goldbrunner, G.R. Fink, A. Drzezga, M. Schmidt, and K.J. Langen, *Diagnosis of pseudoprogression in patients with glioblastoma using O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2015. 42(5): p. 685-95.
134. Galldiks, N., K.J. Langen, R. Holy, M. Pinkawa, G. Stoffels, K.W. Nolte, H.J. Kaiser, C.P. Filss, G.R. Fink, H.H. Coenen, M.J. Eble, and M.D. Piroth, *Assessment of treatment response in patients with glioblastoma using O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET in comparison to MRI*. J Nucl Med, 2012. 53(7): p. 1048-57.
135. Galldiks, N., M. Rapp, G. Stoffels, V. Dunkl, M. Sabel, and K.J. Langen, *Earlier diagnosis of progressive disease during bevacizumab treatment using O-(2-18F-fluorethyl)-L-tyrosine positron emission tomography in comparison with magnetic resonance imaging*. Mol Imaging, 2013. 12(5): p. 273-6.
136. Galldiks, N., M. Rapp, G. Stoffels, G.R. Fink, N.J. Shah, H.H. Coenen, M. Sabel, and K.J. Langen, *Response assessment of bevacizumab in patients with recurrent malignant glioma using [18F]Fluoroethyl-L-tyrosine PET in comparison to MRI*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2013. 40(1): p. 22-33.
137. Holzgreve, A., M. Brendel, S. Gu, J. Carlsen, E. Mille, G. Boning, G. Mastrella, M. Unterrainer, F.J. Gildehaus, A. Rominger, P. Bartenstein, R.E. Kalin, R. Glass, and N.L. Albert, *Monitoring of Tumor Growth with [(18)F]-FET PET in a Mouse Model of Glioblastoma: SUV Measurements and Volumetric Approaches*. Front Neurosci, 2016. 10: p. 260.
138. Kim, M.M., A. Parolia, M.P. Dunphy, and S. Venet, *Non-invasive metabolic imaging of brain tumours in the era of precision medicine*. Nat Rev Clin Oncol, 2016. 13(12): p. 725-739.
139. Metellus, P. and D. Figarella-Branger, *Magnetic resonance metabolic imaging of glioma*. Sci Transl Med, 2012. 4(116): p. 116ps1.
140. Suchorska, B., A. Giese, A. Biczok, M. Unterrainer, M. Weller, M. Drexler, P. Bartenstein, U. Schuller, J.C. Tonn, and N.L. Albert, *Identification of time-to-peak on dynamic 18F-FET-PET as a prognostic marker specifically in IDH1/2 mutant diffuse astrocytoma*. Neuro Oncol, 2018. 20(2): p. 279-288.

141. Langen, K.J. and C. Watts, *Neuro-oncology: Amino acid PET for brain tumours - ready for the clinic?* Nat Rev Neurol, 2016. 12(7): p. 375-6.
142. Heinzel, A., D. Muller, S.S. Yekta-Michael, G. Ceccon, K.J. Langen, F.M. Mottaghy, M. Wiesmann, M. Kocher, E. Hattingen, and N. Galldiks, *O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET for evaluation of brain metastasis recurrence after radiotherapy: an effectiveness and cost-effectiveness analysis.* Neuro Oncol, 2017. 19(9): p. 1271-1278.
143. Heinzel, A., D. Muller, K.J. Langen, M. Blaum, F.A. Verburg, F.M. Mottaghy, and N. Galldiks, *The use of O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET for treatment management of bevacizumab and irinotecan in patients with recurrent high-grade glioma: a cost-effectiveness analysis.* J Nucl Med, 2013. 54(8): p. 1217-22.
144. Heinzel, A., S. Stock, K.J. Langen, and D. Muller, *Cost-effectiveness analysis of FET PET-guided target selection for the diagnosis of gliomas.* Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2012. 39(7): p. 1089-96.
145. Hume, S.P., D.J. Brown, S. Ashworth, E. Hirani, S.K. Luthra, and A.A. Lammertsma, *In vivo saturation kinetics of two dopamine transporter probes measured using a small animal positron emission tomography scanner.* J Neurosci Methods, 1997. 76(1): p. 45-51.
146. Brix, G., J. Doll, M.E. Bellemann, H. Trojan, U. Haberkorn, P. Schmidlin, and H. Ostertag, *Use of scanner characteristics in iterative image reconstruction for high-resolution positron emission tomography studies of small animals.* Eur J Nucl Med, 1997. 24(7): p. 779-86.
147. Visser, C.J.M., A. Wijnbergen, and A. Bleich, *Mäuse und Ratten*, in *Krankheiten der Heimtiere*, K. Gabrisch, et al., Editors. 2010, Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG. p. 129-182.
148. Unterrainer, M., D.F. Fleischmann, S. Lindner, M. Brendel, R. Rupprecht, J.C. Tonn, C. Belka, P. Bartenstein, M. Niyazi, and N.L. Albert, *Detection of Cerebrospinal Fluid Dissemination of Recurrent Glioblastoma Using TSPO-PET With 18F-GE-180.* Clin Nucl Med, 2018. 43(7): p. 518-519.
149. Zinnhardt, B., H. Pigeon, B. Theze, T. Viel, L. Wachsmuth, I.B. Fricke, S. Schelhaas, L. Honold, K. Schwegmann, S. Wagner, A. Faust, C. Faber, M.T. Kuhlmann, S. Hermann, M. Schafers, A. Winkeler, and A.H. Jacobs, *Combined PET Imaging of the Inflammatory Tumor Microenvironment Identifies Margins of Unique Radiotracer Uptake.* Cancer Res, 2017. 77(8): p. 1831-1841.
150. Matsuda, M., E. Ishikawa, T. Yamamoto, K. Hatano, A. Joraku, Y. Iizumi, Y. Masuda, H. Nishiyama, and A. Matsumura, *Potential use of prostate specific membrane antigen (PSMA) for detecting the tumor neovasculature of brain tumors by PET imaging with (89)Zr-Df-IAB2M anti-PSMA minibody.* J Neurooncol, 2018.
151. Papp, L., N. Potsch, M. Grahovac, V. Schmidbauer, A. Woehrer, M. Preusser, M. Mitterhauser, B. Kiesel, W. Wadsak, T. Beyer, M. Hacker, and T. Traub-Weidinger, *Glioma Survival*

Prediction with Combined Analysis of In Vivo (11)C-MET PET Features, Ex Vivo Features, and Patient Features by Supervised Machine Learning. J Nucl Med, 2018. 59(6): p. 892-899.

152. Vomacka, L., N. Albert, M. Unterrainer, A. Holzgreve, E. Mille, A. Gosewisch, B. Suchorska, P. Bartenstein, and G. Boening, *Voxel-wise analysis of dynamic FET PET enables non-invasive differentiation between low and high grade glioma*, in *Oncology Research and Treatment*. 2018. p. 43.

153. Seystahl, K., V. Stoecklein, U. Schuller, E. Rushing, G. Nicolas, N. Schafer, H. Ilhan, A. Pangalu, M. Weller, J.C. Tonn, M. Sommerauer, and N.L. Albert, *Somatostatin receptor-targeted radionuclide therapy for progressive meningioma: benefit linked to 68Ga-DOTATATE/-TOC uptake.* Neuro Oncol, 2016. 18(11): p. 1538-1547.

154. Goldbrunner, R., G. Minniti, M. Preusser, M.D. Jenkinson, K. Sallabanda, E. Houdart, A. von Deimling, P. Stavrinou, F. Lefranc, M. Lund-Johansen, E.C. Moyal, D. Brandsma, R. Henriksson, R. Soffietti, and M. Weller, *EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas.* Lancet Oncol, 2016. 17(9): p. e383-91.

155. Jannetti, S.A., G. Carlucci, B. Carney, S. Kossatz, L. Shenker, L.M. Carter, B. Salinas, C. Brand, A. Sadique, P.L. Donabedian, K.M. Cunanan, M. Gonen, V. Ponomarev, B.M. Zeglis, M.M. Souweidane, J.S. Lewis, W.A. Weber, J.L. Humm, and T. Reiner, *PARP1-Targeted Radiotherapy in Mouse Models of Glioblastoma.* J Nucl Med, 2018.

156. Sattiraju, A., K.K. Solingapuram Sai, A. Xuan, D.N. Pandya, F.G. Almaguel, T.J. Wadas, D.M. Herpai, W. Debinski, and A. Mintz, *IL13RA2 targeted alpha particle therapy against glioblastomas.* Oncotarget, 2017. 8(26): p. 42997-43007.

157. Backhaus, P., B. Noto, N. Avramovic, L.S. Grubert, S. Huss, M. Bogemann, L. Stegger, M. Weckesser, M. Schafers, and K. Rahbar, *Targeting PSMA by radioligands in non-prostate disease-current status and future perspectives.* Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2018. 45(5): p. 860-877.

158. Bradley, C.A., *[(177)Lu]PSMA-617 radionuclide therapy shows promise.* Nat Rev Urol, 2018.

7.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1.1 Das Glioblastom im Rahmen der integrierten Diagnose nach der neuen WHO-Klassifikation von 2016.....	6
Abbildung 2.2.1 Vereinfachte Übersicht gängiger Maustumormodelle	9
Abbildung 3.2.1 Strukturformel des O-(2- ¹⁸ F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin [85]	17
Abbildung 3.3.1 Typische Aufnahmekinetiken des ¹⁸ F-FET in Gliomen	19
Abbildung 4.1.1 Orthotope Tumorzellinokulation.....	27
Abbildung 4.1.2 Hintergrund-VOI	30
Abbildung 4.1.3 Perfusion und Hirnpräparation.....	32
Abbildung 4.1.4 Manuelle ROI-Definition in der Autoradiographie	33
Abbildung 4.1.5 HE-Schnitt mit manuell eingezeichneter Tumor-ROI.....	35
Abbildung 4.2.1 Monitoring von Tumorwachstum mittels ¹⁸ F-FET PET 1.....	37
Abbildung 4.2.2 Monitoring von Tumorwachstum mittels ¹⁸ F-FET PET 2.....	38
Abbildung 4.2.3 ¹⁸ F-FET-Aufnahme in Tumor- und Kontrollmaus	39
Abbildung 4.2.4 Tumorwachstum in der ¹⁸ F-FET Autoradiographie	40
Abbildung 4.2.5 Histologischer Vergleich der Inokulationsstellen in Tumormaus und Kontrollmaus in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung	41
Abbildung 4.2.6 Uniforme Tumor-VOI	42
Abbildung 4.2.7 ¹⁸ F-FET-Aufnahme im zeitlichen Verlauf in Tumor- und in Kontrollmäusen unter Anwendung der uniformen Tumor-VOI.....	43
Abbildung 4.2.8 VOI-Maske für die Partialvolumeneffekt-Korrektur	45
Abbildung 4.2.9 Effekt der Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC) auf die Quantifizierung der tumoralen ¹⁸ F-FET-Aufnahme in der PET	45
Abbildung 4.2.10 Anwendungsbeispiel der Partialvolumeneffekt-Korrektur (PVEC) für die Optimierung der ¹⁸ F-FET PET-Quantifizierung.....	46
Abbildung 4.3.1 Grenzwert-basierte biologische Tumorumfänge (BTV) in der ¹⁸ F-FET PET im Vergleich zum Tumorumfang in der Histologie 1.....	48
Abbildung 4.3.2 Fehler der BTV-Definition über vordefinierte Grenzwerte	49
Abbildung 4.4.1 Korrelation des individuellen Grenzwertes mit TBR _{max}	51
Abbildung 4.4.2 Formabgleich der individuellen Tumor-VOI in ¹⁸ F-FET PET und HE-Histologie.....	52
Abbildung 4.4.3 Entwicklung des individuellen BTV über die Zeit 1	53
Abbildung 4.4.4 Entwicklung des individuellen BTV über die Zeit 2	54

Abbildung 4.4.5 Grenzwert-basierte biologische Tumorumina (BTV) in der ^{18}F -FET PET im Vergleich zum Tumorumen in der Histologie 2.....	55
Abbildung 4.4.6 Validierung der TBR_{max} -basierten BTV-Bestimmung in der ^{18}F -FET PET anhand des histologischen Tumorumens.....	56

8 Danksagung

Mein Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Peter Bartenstein für die freundliche Überlassung des Themas sowie die immerwährende Unterstützung aller Forschungsvorhaben auch über diese Dissertation hinaus. Die Voraussetzungen für wissenschaftliche Arbeit sind in der Nuklearmedizinischen Klinik ausgezeichnet.

Herrn Prof. Dr. med. Jörg-Christian Tonn möchte ich für den frühen Rat bezüglich der Promotion sowie die kontinuierliche Förderung meines Interesses auf dem Gebiet der klinischen und experimentellen Neuroonkologie ganz herzlich danken. Ich freue mich sehr, als Assistenzarzt seit Mitte 2018 die angefangenen Forschungsprojekte in der Neurochirurgischen Klinik fortführen zu können.

Mein größter Dank gilt Frau PD Dr. med. Nathalie Albert für ihre perfekte wissenschaftliche Betreuung. Ohne ihren Enthusiasmus für die gemeinsame Forschung, ihre aktive Nachwuchsförderung sowie ihre einnehmende Art wären die ersten Schritte in der Wissenschaft weniger spannend, lehrreich und erfolgreich gewesen.

Die tierexperimentelle Erfahrung von Herrn Dr. med. Matthias Brendel sowie sein Talent für die elegante Lösung unvorhergesehener Probleme waren Gold wert für das Gelingen der gesamten Versuche und verdienen besonderen Dank.

Die praktische Arbeit mit Frau Karin Bormann-Giglmaier hätte nicht besser eingespielt ablaufen können. Ihre herzliche und immer unterstützende Art hat einen die Länge und Anstrengung der tierexperimentellen Arbeitstage bisweilen vergessen lassen.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Rainer Glaß und Herrn Dr. sc. nat. Roland Kälin danke ich für die bereichernde interdisziplinäre Kooperation und ihre maßgebliche Unterstützung insbesondere in tumorbiologischen Fragen.

Des Weiteren gebührt mein Dank allen, die zum Gelingen der vorliegenden Dissertation beigetragen haben. Besondere Erwähnung verdienen Dr. Marcus Unterrainer, Dennis Pötter, Michael Lifschitz, Dr. Bogdana Suchorska, Dr. Erik Mille, Dr. Franz Josef Gildehaus, PD Dr. Guido Böning, Prof. Dr. Axel Rominger, Lena Vomacka, Rosel Oos, Dr. Janette Carlsen, Dr. Barbara v. Ungern-Sternberg, Georg Hupel, Song Gu, Giorgia Mastrella, Ramazan Uyar, Mengzhou Hou und Dr. Jessica Schuster.

Von ganzem Herzen gilt mein wichtigster Dank meiner Familie, insbesondere meinen Eltern. Ohne die bedingungslose familiäre Unterstützung wären mein Studium und meine Promotion in dieser Form nicht möglich gewesen.

9 Eidesstattliche Versicherung

Holzgreve, Adrien

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

*„Molekulare Bildgebung mittels O-(2-¹⁸F-Fluoroethyl)-L-Tyrosin
Positronen-Emissions-Tomographie im Glioblastom-Mausmodell“*

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 15.06.2018

Ort, Datum

Adrien Holzgreve

Unterschrift Doktorand